

唾液酸(SA)含量测定试剂盒说明书（神经氨酸苷酶法）

（货号：G1233W48 微板法 48 样）

一、产品简介：

唾液酸是神经氨酸，广泛存在动物组织及微生物中，是细胞膜糖蛋白和糖脂的重要成份，位于细胞膜糖蛋白及糖脂末端，参与细胞表面多种生理功能。恶性肿瘤表面糖蛋白和糖脂的结构及含量发生明显变化，可使多量的 SA 从癌细胞表面脱落进入血液，使血清 SA 升高。其含量的测定对某些先天性代谢障碍及 Behcet 综合症的研究具有重要意义。SA 升高也是心血管疾病的危险因素之一。

唾液酸受神经氨酸苷酶的作用，形成 N-乙酰神经氨酸，进而在 N-乙酰神经醛缩酶的作用下生成丙酮酸和 N-乙酰甘露糖醇。丙酮酸在 NADH 存在下由乳酸脱氢酶（LDH）作用下生成乳酸和 NAD^+ ，通过测定 NADH 吸光度下降速率即可得到样品中唾液酸的浓度。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 8mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 2.5mL×1 瓶	4℃保存	
标准管	液体 0.2mL×1 支	4℃保存	浓度为70.0mg/dL。

三、所需仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

四、唾液酸(SA)含量检测：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免样本和试剂浪费！

1、样本制备：

- ① 血清。新鲜样本采血后尽快分离血清，血清在 4℃可稳定一周。

当样本中 $\text{VC} \leq 100\text{mg/dL}$ ，胆红素 $\leq 50\text{mg/dL}$ ，血红蛋白 $\leq 500\text{mg/dL}$ 时未观察到明显干扰。

- ② 组织样本：

称取约 0.1g 组织样本加入研钵中，加入 1mL 生理盐水，进行冰浴匀浆，8000rpm，4℃或室温离心 10min，取上清液待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量(g)：提取液(mL)为 1:5~10 的比例进行提取。

- ③ 细胞样本：

先收集细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细胞加入 1mL 生理盐水，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 室温离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按细胞数量 (10^4)：提取液 (mL) 为 500~1000: 1 的比例进行提取。

2、上机检测：

- ① 酶标仪预热 30min，设定波长到 340nm。
② 所有试剂解冻至室温，在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	标准管 (仅做一次)
样本	7	
标准品		7
试剂一	150	150
37°C条件下, 孵育 5min。		
试剂二	50	50
混匀, 37°C条件下, 30s 时于 340nm 处读取吸光值 A1, 5min30s 时读取 A2。ΔA=A1-A2。		

【注】：1. 若ΔA 大于 0.6, 可用生理盐水或蒸馏水对样本进行稀释, 稀释倍数 D 代入计算公式。

2. 若ΔA 值小于 0.01, 可增加样本加样体积 V1 (如由 7μL 增至 20μL, 空白管也由 7μL 增至 20μL 蒸馏水, 标准管是 7μL 标准品和 13μL 蒸馏水; 其他试剂均保持不变)。则改变后的 V1 代入公式重新计算。或者测定管和标准管和空白管均增加至 10min30s 时读取 A2 值, 则重新计算ΔA 并代入计算。

五、结果计算:

1、按照体积计算:

$$\text{唾液酸(SA)} (\text{mg/dL}) = (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div \text{V1} \times \text{D} = 70 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times \text{D}$$

2、按样本质量计算:

$$\text{唾液酸(SA)} (\text{mg/g}) = (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (\text{V1} \div \text{V} \times \text{W}) \times \text{D} = 0.7 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div \text{W} \times \text{D}$$

3、按细胞数量计算:

$$\text{唾液酸(SA)} (\text{mg}/10^4 \text{ cell}) = (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (\text{V1} \div \text{V} \times 500) \times \text{D} = 0.7 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div 500 \times \text{D}$$

C 标准---标品浓度, 70.0mg/dL=0.7mg/mL;

V2---加入标准品体积, 0.007mL;

W---质量, g;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1。

重复性 CV 不大于 10%; 批间相对极差 R 不大于 10%。

V1---加入样本体积, 0.007mL;

V---提取液体积, 1mL;

500---细胞数量, 万;