唾液酸(SA)含量(神经氨酸苷酶法)试剂盒

微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使用说明书

货号：JL-T2274　　**有 效 期：**6 个月

规格：48T(46S)/96T(94S)　　**保存温度：**2-8℃和-20℃

实验原理：

唾液酸(Sialic acid，SA)广泛存在于动物及微生物中，通常以低聚糖、糖脂或者糖蛋白的形式存在，是细胞膜的重要组成成分。SA 位于细胞膜糖蛋白及糖脂末端，参与细胞的识别、粘着和接触抑制等多种生理功能，是一种广谱的肿瘤标志物。当正常细胞转化为恶性肿瘤细胞时，细胞表面糖蛋白和糖脂的结构和含量发生明显变化，SA 脱落进入血液，使得血清 SA 含量升高，测定其水平高低对恶性肿瘤的辅助诊断、疗效观察及预后判断有重要意义。

SA 在一系列酶的作用下生成丙酮酸，丙酮酸在乳酸脱氢酶和 NADH 的作用下生成乳酸和 NAD^+，通过测定 NADH 在 340nm 吸光度的下降即可间接测出样本中 SA 的浓度。

检测范围：0.5-4mmol/L　　灵敏度：0.5mmol/L

注意事项：

1. 不能使用过期产品，不同货号和批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

产品组成：

试剂名称	规格（48T/46S）	规格（96T/94S）	保存条件
试剂 a	7.5mL×1 瓶	15mL×1 瓶	2-8℃，避光
试剂 b	2.5mL×1 瓶	5mL×1 瓶	2-8℃，避光
试剂一	50μL×1 瓶	50μL×2 瓶	-20℃，避光
试剂二	50μL×1 瓶	50μL×2 瓶	-20℃，避光
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃

所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、生理盐水、水浴锅。

样本处理及要求：

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**，建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.5-4mmol/L，如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩，样本的稀释液为生理盐水。

2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性

3. **血清（浆）等液体样本**：新鲜样本采血后尽快分离血清。所有液体样本均需室温离心 10000g，10min，取上清液待测。

4. **组织样本：**按照组织质量(g):生理盐水体积(mL)为 1:5~10 的比例（例如约 0.1g 组织，加入 1mL 生理盐水）进行冰浴匀浆，匀浆后，4℃，10000 g 离心 10min，取上清置冰上待测。

5. **细菌/细胞样本：**收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌/细胞数量（10^4）：生理盐水（mL）为 500~1000：1 的比例(建议按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL 生理盐水)，超声波破碎细菌或细胞（功率 200w，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次），10000 g，离心 10min，取上清待测。

检测前准备工作：

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。

2. **试剂一**：取一瓶加入 7.5mL 的试剂 a，现配现用，配好的试剂当天使用完毕。

3. **试剂二**：取一瓶加入 2.5mL 的试剂 b，现配现用，配好的试剂当天使用完毕。

4. **标准品溶液的配置**：临用前取一瓶加入 5mL 蒸馏水，配置成 5mmol/L 标准品母液。再取一新 EP 管中加入 400μL 标准品母液，再加入 600μL 蒸馏水混匀，配置成 2mmol/L 标准品溶液，配置好后-20℃可保存 3 天。

操作步骤：

1. **酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm。**

2. **在石英 96 孔板中依次加入：**

试剂名称(μL)	标准孔	空白孔	测定孔
2mmol/L 标准品	7		
蒸馏水		7	
样本			7
试剂一	150	150	150
振板 5s，37℃孵育 10min			
试剂二	50	50	50
酶标仪立刻于 340nm 测定各孔 OD 值 A1			
37℃孵育 10min，340nm 测定各孔 OD 值 A2			

注：1.加入试剂二后初期反应速率很快，为了保证 A1 测值的准确度，建议一次测定不超过 8 个测定孔(不包含空白孔、标准孔)。

2.测定低值样本时，可将样本孔的加样量增加到 10-15μL，相应的空白孔和标准孔的加样量也需要同时增加。

实验结果结算：

1. **按液体体积计算：**

唾液酸(SA)(mmol/L)=($\triangle A_{测定}$-$\triangle A_{空白}$)÷$\triangle A_{标准}$×$C_{标}$×N

2. **按样本质量计算：**

唾液酸(SA)(mmol/g)=($\triangle A_{测定}$-$\triangle A_{空白}$)÷$\triangle A_{标准}$×$C_{标}$×$V_{提}$÷W×N

3. **按细菌或细胞密度计算：**

唾液酸(SA)(mmol/10^4cell)=($\triangle A_{测定}$-$\triangle A_{空白}$)÷$\triangle A_{标准}$×$C_{标}$×$V_{提}$÷500×N

注：

$\triangle A_{测定}$：$A1_{测定}$-$A2_{测定}$

$\triangle A_{标准}$：$A2_{空白}$-$A2_{标准}$

$C_{标}$：标准品浓度，2mmol/L

$\triangle A_{空白}$：$A1_{空白}$-$A2_{空白}$

N：样本稀释倍数

W：样品质量，g

$V_{提}$：加入提取液（生理盐水）体积，1mL

500：细胞或细菌数量，万

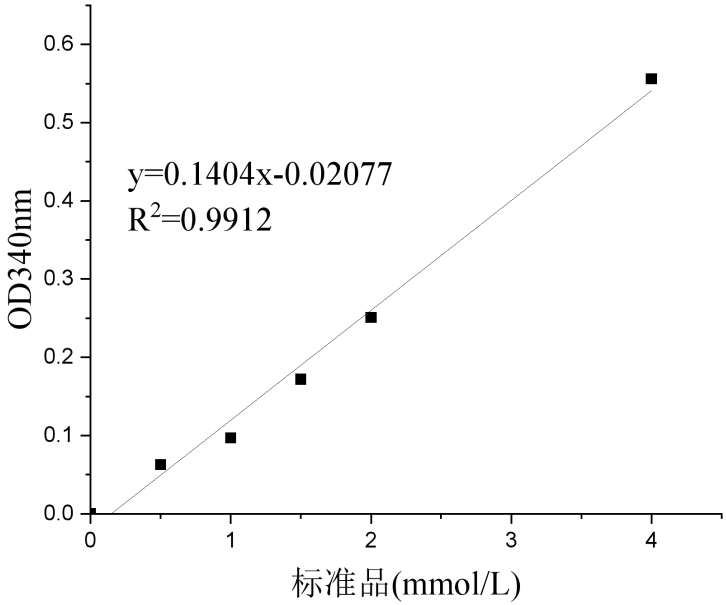
参考样本数据：

以下数据仅供参考：

样本类型	稀释倍数	参考值
人血清	不稀释	1.557mmol/L
人母乳	不稀释	2.409mmol/L
人唾液	不稀释	0.466mmol/L

参考曲线：

y=0.1404x-0.02077,R^2=0.9912,x 是标准品的浓度（mmol/L），y 是△A。



注意：标准曲线仅作参考，客户不用制作。

咨询电话：400-0066-400

传　　真：021-55660885

电子邮箱：shjlsw@163.com

网　　址：www.jonln.com