

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K813-M

产品规格: 48T(44 samples)/96T(92 samples)

检测仪器: 酶标仪(340 nm)

Elabscience®唾液酸 (SA) 比色法测试盒 (酶法)

Sialic Acid (SA) Colorimetric Assay Kit (Enzyme Method)

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清（浆）、唾液、乳汁等液体样本中的唾液酸(SA)含量。

检测原理

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 340 nm 吸光度的下降即可间接测出样本中 SA 的浓度。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	酶试剂 A (Enzyme Regent A)	9 mL×1 瓶	18 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	酶试剂 B (Enzyme Regent B)	3 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	2 mmol/L 标准品 (2 mmol/L Standard)	0.2 mL×1 支	0.2 mL×1 支	2-8℃避光 保存 6 个月
	UV 酶标板	96 孔 × 1 块		无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，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。

所需自备物品

仪器：酶标仪(340 nm)， 恒温箱

试剂准备

检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温(25℃)。

样本准备

① 样本处理

血清(浆)等液体样本：直接测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.05-4.00 mmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清(浆)	不稀释	小鼠血清(浆)	不稀释
大鼠血清(浆)	不稀释	人乳汁	不稀释
人唾液	不稀释	兔血清	不稀释
鸡血清	不稀释	猪血清	不稀释
马血清	不稀释		

注：稀释液为双蒸水。

实验关键点

- 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 10-15 μL，相应的空白孔和标准孔的加样量也需要同时增加。

操作步骤

- ① 空白孔：取 7 μ L 双蒸水，加入相应的酶标孔中；
标准孔：取 7 μ L 试剂三，加入相应的酶标孔中；
测定孔：取 7 μ L 待测样本，加入相应的酶标孔中。
- ② 向步骤①中各孔加入 150 μ L 试剂一。
- ③ 振板 5 s，37°C 孵育 10 min。
- ④ 向步骤③中各孔加入 50 μ L 试剂二。
- ⑤ 酶标仪立刻于 340 nm 测定各孔 OD 值 A_1 。
- ⑥ 37°C 孵育 10 min，340 nm 测定各孔 OD 值 A_2 。

操作表

	空白孔	标准孔	测定孔
双蒸水(μ L)	7	--	--
试剂三(μ L)	--	7	--
待测样本(μ L)	--	--	7
试剂一(μ L)	150	150	150
振板 5 s，37°C 孵育 10 min			
试剂二(μ L)	50	50	50
酶标仪立刻于 340 nm 测定各孔 OD 值 A_1			
37°C 孵育 10 min，340 nm 测定各孔 OD 值 A_2			

结果计算

血清(浆)等液体样本中 SA 含量计算公式:

$$\text{SA 含量 (mmol/L)} = \frac{\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}}{\Delta A_{\text{标准}}} \times c \times f$$

注解:

$\Delta A_{\text{测定}}$: $A_{1\text{ 测定}} - A_{2\text{ 测定}}$

$\Delta A_{\text{空白}}$: $A_{1\text{ 空白}} - A_{2\text{ 空白}}$

$\Delta A_{\text{标准}}$: $A_{2\text{ 空白}} - A_{2\text{ 标准}}$

c: 标准品浓度, 2 mmol/L

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

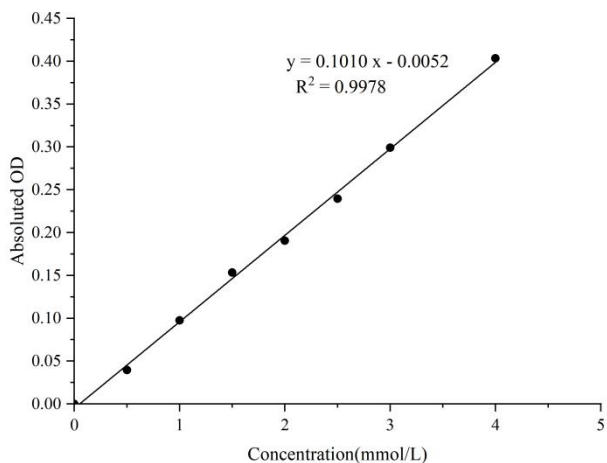
检测范围	0.05-4.00 mmol/L	批间差	6.3-7.3%
灵敏度	0.05 mmol/L	批内差	3.2-4.5%
加标回收率	96-100%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量7 μ L，按照操作步骤进行实验，OD值如下表所示：

标准品浓度(mmol/L)	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	4
A ₂ 值	0.802	0.762	0.707	0.650	0.619	0.563	0.499	0.403
	0.804	0.765	0.704	0.649	0.606	0.564	0.509	0.396
平均 A ₂ 值	0.803	0.764	0.706	0.650	0.612	0.564	0.504	0.400
绝对 A ₂ 值	0.000	0.040	0.098	0.154	0.191	0.240	0.299	0.404

② 绘制标曲(如下图)：



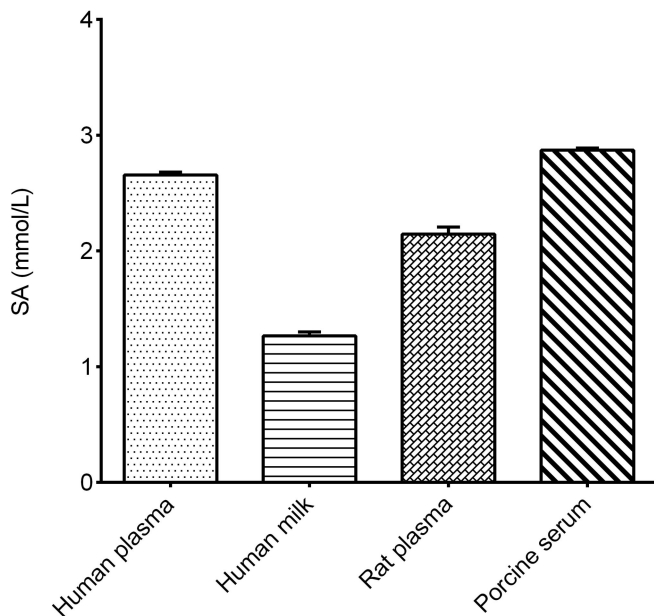
附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考):

取 7 μL 人血清样本, 按操作表操作, 结果如下: 测定孔 A_1 值为 0.835, 测定孔 A_2 值为 0.570, $\Delta A_{\text{测定}} = 0.835 - 0.570 = 0.265$; 空白孔 A_1 值为 0.805, 空白孔 A_2 值为 0.803, $\Delta A_{\text{空白}} = 0.805 - 0.803 = 0.002$; 标准孔 A_2 值为 0.611。计算结果为:

$$\text{SA含量}(\text{mmol/L}) = (0.265 - 0.002) \div (0.803 - 0.611) \times 2 = 2.74 \text{ mmol/L}$$

按照说明书操作, 测定人血浆(加样量 7 μL)、人乳汁(加样量 7 μL)、大鼠血浆(加样量 7 μL)、猪血清(加样量 7 μL)中 SA 含量(如下图):



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等于样本中待测物的浓度范围。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。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。