（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-K068-M

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪（510-570 nm）

Elabscience®唾液酸（SA）比色法测试盒

Sialic Acid (SA) Colorimetric Assay Kit

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、血浆、唾液、尿液、胸水及动植物组织样本中唾液酸含量。

检测原理

唾液酸（SA）在氧化剂存在的情况下与甲基间苯二酚形成紫红色络合物，吸光度符合朗伯-比尔定律，通过测定络合物吸光度与标准，即可计算出唾液酸的含量。

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（货号：E-BC-K318-M）。

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)	8 mmol/L SA 标准品 (8 mmol/L SA Standard)	1 mL×1 支	1 mL×2 支	-20℃避光保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 (Chromogenic Agent)	30 mL×1 瓶	30 mL×2 瓶	2-8℃避光保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	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（510-570 nm，最佳检测波长 560 nm）、恒温水浴箱、涡旋混匀仪、微量移液器（1000 μL，200 μL，50 μL，10 μL）、离心机。

耗材：枪头（1000 μL，200 μL，10 μL）、EP 管（10 mL，5 mL，2 mL）。

试剂：双蒸水、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）

试剂准备

① 试剂一从-20℃取出，放在冰上缓慢融化（最好分装，避免反复冻融），其它试剂平衡至室温。

② 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	**0**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
8 mmol/L 标准品（μL）	0	25	50	75	100	125	150	175
双蒸水（μL）	200	175	150	125	100	75	50	25

样本准备

① 样本处理

血清（浆）、唾液等液体样本：可直接测定。

组织样本：常规匀浆处理(生理盐水(0.9% NaCl 溶液)或 PBS(0.01 M，pH 7.4))。匀浆后，4℃，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择差异较大的2-3个样本稀释成不同浓度进行预实验，不同样本稀释如下表（仅供参考）：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	人尿液	不稀释
大鼠血清	不稀释	人胸水	不稀释
小鼠血清	不稀释	10%植物组织	不稀释
猪血清	不稀释	10%小鼠心组织	不稀释
人血浆	不稀释	10%小鼠肝组织	不稀释
大鼠血浆	不稀释	10%小鼠肾组织	不稀释
小鼠血浆	不稀释	10%小鼠肺组织	不稀释
人唾液	不稀释	10%小鼠脑组织	不稀释

注：稀释液为生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7. 4 ）。

实验关键点

① 100℃水浴时间要充分，且沸水液面高于 EP 管内试剂液面。

② 离心后取上清液，要小心取样，不能将沉淀移入酶标板中。

操作步骤

① 标准管：样本为血清（浆）、唾液等液体样本时，取 25 μL 不同浓度标准品，加入 2 mL EP 管中；样本为组织样本时，取 25 μL 双蒸水和 25 μL 不同浓度标准品，加入 2 mL EP 管中；

测定管：取 25 μL 血清（浆）、唾液等液体样本，或 50 μL 组织匀浆样本，加入 2 mL EP 管中。

② 向步骤①中的各管加入 500 μL 试剂二。

③ 涡旋混匀后，100℃水浴 15 min（沸水液面高于 EP 管内试剂液面）。

④ 取出后流水冷却，2325 × g，离心 10 min。

⑤ 取上清液 200 μL 加入酶标板，酶标仪 560 nm 处，测定各孔 OD 值。

操作表

血清（浆）、唾液等液体样本操作表

	标准管	测定管
不同浓度 SA 标准品（μL）	25	--
血清（浆）、唾液等液体样本（μL）	--	25
试剂二（μL）	500	500
旋涡混匀仪混匀，100℃水浴 15 min，流水冷却，2325 × g，离心 10 min。各取上清液 200 μL 加入酶标板，酶标仪 560 nm 处，测定各孔 OD 值。		

动植物组织样本操作表

	标准管	**测定管**
双蒸水（μL）	25	--
不同浓度 SA 标准品（μL）	25	--
组织、细胞样本（μL）	--	50
试剂二（μL）	500	500
旋涡混匀仪混匀，100℃水浴 15 min，流水冷却，2325 × g，离心 10 min。各取上清液 200 μL 加入酶标板，酶标仪 560 nm 处，测定各孔 OD 值。		

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

注：做动植物组织样本时，注意标曲横坐标-浓度的变化，它是血清（浆）、唾液样本横坐标的 1/2（即标曲横坐标由 0、1、2、3 mmol/L…变为 0、0.5、1.0、1.5 mmol/L…）。

结果计算

血清（浆）、唾液中 SA 含量计算公式：

标准品拟合曲线：$y = a_1x + b_1$

$$\text{SA 含量（mmol/L）} = (\Delta A_{560} - b_1) \div a_1 \times f$$

动植物组织中 SA 含量计算公式：

标准品拟合曲线：$y = a_2 x + b_2$

$$\text{SA 含量（mmol/gprot）} = (\Delta A_{560} - b_2) \div a_2 \div C_{pr} \times f$$

注解：

ΔA_{560}：样本测定 OD 值-空白 OD 值（标准品浓度为 0 时的 OD 值）

f：样本加入检测体系之前的稀释倍数

C_{pr}：待测样本的蛋白浓度（gprot/L）

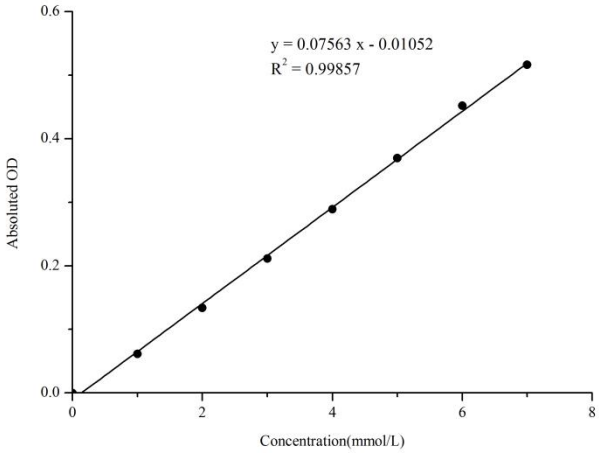
附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.03-7 mmol/L	**平均批间差**	6.1 %
灵敏度	0.03 mmol/L	**平均批内差**	4.0 %
平均回收率	95 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 标准曲线（数据仅供参考）：



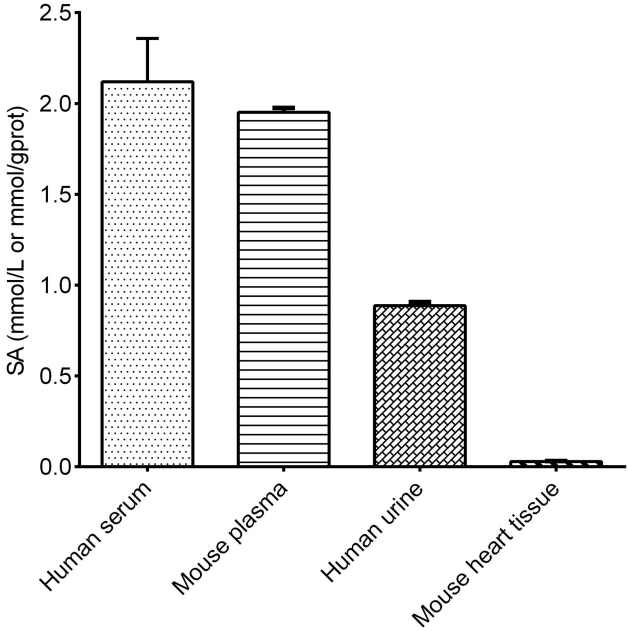
附录2 实例分析

例如检测小鼠血浆：

取25 μL小鼠血浆，按操作表检测，结果如下：SA的标准曲线：y = 0.0817 x - 0.0069，测定孔平均OD值为0.194，空白孔平均OD值为0.042，计算结果为：

$$\text{SA含量（mmol/L）} = (0.194 - 0.042 + 0.0069) \div 0.0817 = 1.94 \text{ mmol/L}$$

按照说明书操作，测定人血清（加样量25 μL）、小鼠血浆（加样量25 μL）、人尿液（加样量25 μL）、小鼠心组织（10%组织匀浆的蛋白含量7.15 gprot/L，加样量50 μL）中SA含量（如图）



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	把沉淀加入酶标板中	重新实验，离心后取上清液
样本显色太浅	水浴时间不够	保证 100℃水浴时间充分
样本测不出值	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测
样本测量结果 >7 mmol/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数，重新检测
复孔差异大	把沉淀加入酶标板中	重新实验，离心后取上清液

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同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。

附录4 客户发表文献

1. Yuni Hong, Yun-Hyeok Choi, Young-Eun Han, et al. Central Administration of Ampelopsin A Isolated from Vitis vinifera Ameliorates Cognitive and Memory Function in a Scopolamine-Induced Dementia Model[J]. Antioxidants-Basel. 2021 Jun; 10(6):835. IF:6.312
2. Li Q, R Cebrián, M Montalbán-López, et al. Outer-membrane-acting peptides and lipid II-targeting antibiotics cooperatively kill Gram-negative pathogens[J]. Communications Biology, 2021, 4(1). IF:6.268
3. Naseh A, Shirin B, Maryam M,et al.Attenuation of chronic arsenic neurotoxicity via melatonin in male offspring of maternal rats exposed to arsenic during conception: Involvement of oxidative DNA damage and inflammatory signaling cascades[J]. Life Sciences 266 (2021) 118876. IF:5.037
4. Baek S Y, Li F Y, Kim D H, et al. Enteromorpha prolifera extract improves memory in scopolamine-treated mice via downregulating amyloid-β expression and upregulating BDNF/TrkB pathway[J]. Antioxidants, 2020, 9(7): 620. IF:5.014
5. Aydinoglu F, Ad?belli E?, Y?lmaz-Oral D, Ogulener N. Involvement of RhoA/Rho-kinase in l-cysteine/H2S pathway-induced inhibition of agonist-mediated corpus cavernosal smooth muscle contraction. Nitric Oxide. 2019;85:54 鈥?60. IF:3.371
6. Cui Y, Wang Y, Liu G. Protective Effect of Barbaloin in a Rat Model of Myocardial Ischemia Reperfusion Injury Through the Regulation of the CNPY2?PERK Pathway[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2019. IF:2.928
7. Altaf S, Muhammad F, Aslam B, et al. Cell membrane enveloped polymeric nanosponge for detoxification of chlorpyrifos poison: In vitro and in vivo studies[J]. Human & Experimental Toxicology, 2021, 40(8):1286-1295. IF:2.903
8. Song Q Q, NIN J P, Zhang S Y, et al. Effects of Simulated Heat Wave and Ozone on High Fat Diet ApoE Deficient Mice[J]. Biomedical and Environmental Sciences, 2018, 31(10): 757-768. IF:2.518
9. Wang L, Yang Y, Cui Q, et al. Evaluating the added predictive ability of MMP-9 in serum for Kawasaki disease with coronary artery lesions[J]. Journal of Investigative Medicine, 2020. IF:2.304
10. Yilmaz-Oral D, Kaya-Sezginer E, Oztekin C V, et al. Evaluation of combined therapeutic effects of hydrogen sulfide donor sodium hydrogen sulfide and phosphodiesterase type-5

inhibitor tadalafil on erectile dysfunction in a partially bladder outlet obstructed rat model[J]. Neurourology and Urodynamics, 2020, 39(4): 1087-1097. IF:2.037

11. Yilmaz E, Kaya-Sezginer E, Yilmaz-Oral D, et al. Effects of Hydrogen Sulphide Donor, Sodium Hydrosulphide Treatment on the Erectile Dysfunction in L-NAME-induced Hypertensive Rats[J]. Andrologia, 2019. IF:1.84
12. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. J Adv Res. 2022.