

(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-D004**

**产品规格: 96T**

**检测仪器: 荧光酶标仪(激发波长 330 nm, 发射波长 450 nm)**

## **Elabscience®神经氨酸酶(NA)抑制剂筛选测试盒**

### **Neuraminidases (NA) Inhibitor Screening 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](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址：[www.elabscience.cn](http://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

本试剂盒适用于筛选作用于神经氨酸酶(NA)的化合物样本。

## 检测原理

神经氨酸酶(Neuraminidases, NA), 又称为唾液酸酶, 是可水解糖脂、低聚糖和糖蛋白末端唾液酸残基的外聚糖酶家族, 分布于病毒、细菌、真菌和脊柱动物细胞中。病毒性神经氨酸酶是一些流感药物作用的重要靶点之一; 人类神经氨酸酶在多种信号通路中发挥作用, 与神经退行性疾病、癌症和心脑血管疾病等多种疾病相关。因此, 开发 NA 抑制剂具有重要意义。本试剂盒的检测原理是 NA 分解底物释放荧光物质, 加入 NA 抑制剂可抑制该酶活, 通过荧光值大小可判断抑制剂的抑制能力。

## 提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	25 mL×1 瓶	-20℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	0.6 mL×1 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	粉剂×1 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	1 mmol/L 奥司他韦酸 (1 mmol/L Oseltamivir Acid)	0.24 mL×1 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
	96 孔黑色酶标板	1 板	
	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：荧光酶标仪(激发波长为 330 nm，发射波长为 450 nm)，37℃ 恒温箱

## 试剂准备

① 检测前，试剂三置于冰盒上缓慢解冻备用，其余试剂平衡至室温。

② 工作液的配制：

按试剂二：试剂一体积比=1：19混匀，按需配制，2-8℃避光可保存3天。

③ 酶工作液的配制：

取一支试剂三加入240 μL试剂一，配制成酶母液，再按酶母液：试剂一体积比=3：250混匀，配制成酶工作液，按需配制，2-8℃避光可保存1天，未使用完的酶母液可分装，-20℃保存14天，避免反复冻融。

④ 抑制剂工作液的配制：

按试剂四：试剂一体积比=1：9混匀，按需配制，2-8℃避光可保存3天。未使用完的试剂四可分装，-20℃保存1个月，避免反复冻融。注：此试剂为神经氨酸酶专一性抑制剂，用户可根据情况使用。

## 样本准备

建议使用 DMSO 为化合物样本溶剂。

## 实验关键点

① 试剂准备过程注意避光。

② 加样完成后，可稍微振荡酶标板使反应试剂混合均匀。

③ 加入底物后反应会立即开始，如果检测孔数超过 20 孔，建议用排枪操作，以减小各孔间加入底物的时间差而导致的误差。

## 操作步骤

- ① 空白孔：加入 80  $\mu\text{L}$  试剂一；  
对照孔、测定孔：加入 80  $\mu\text{L}$  酶工作液。
- ② 向空白孔、对照孔中加入 20  $\mu\text{L}$  样本溶剂；  
测定孔中加入 20  $\mu\text{L}$  样本。
- ③ 振板 3 s, 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 10 min。
- ④ 向各孔中加入 100  $\mu\text{L}$  工作液。
- ⑤ 振板 3 s, 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 30 min, 荧光酶标仪于激发波长 330 nm, 发射波长 450 nm 处检测各孔荧光值。

## 操作表

	空白孔	对照孔	测定孔
试剂一( $\mu\text{L}$ )	80	--	--
酶工作液( $\mu\text{L}$ )	--	80	80
样本溶剂( $\mu\text{L}$ )	20	20	--
样本( $\mu\text{L}$ )	--	--	20
振板 3 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min			
工作液( $\mu\text{L}$ )	100	100	100
振板 3 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min, 荧光酶标仪于激发波长 330 nm, 发射波长 450 nm 处检测各孔荧光值。			

## 结果计算

样本抑制率计算公式：

$$\text{样本抑制率}(\%) = \frac{F_{\text{对}} - F_{\text{测}}}{F_{\text{对}} - F_{\text{空}}} \times 100\%$$

注解：

$F_{\text{空}}$ ：空白孔荧光值

$F_{\text{测}}$ ：测定孔荧光值

$F_{\text{对}}$ ：对照孔荧光值

## 附录1 关键数据

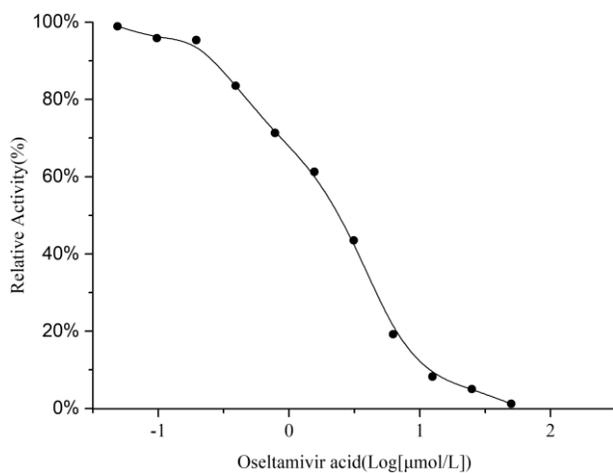
### 1. 技术参数

批内差	1-2 %	批间差	2-4 %
-----	-------	-----	-------

### 2. 抑制率曲线

神经氨酸酶 (NA) 抑制剂筛选试剂盒检测NA抑制剂奥司他韦酸的效果

图:



## 附录2 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
样本荧光值过低	样本稀释倍数太大或孵育时间不够	选择合适稀释倍数,或延长反应时间

### 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。



