

(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-S

产品规格：50 assays(48 samples)/100 assays(96 samples)

检测仪器：紫外-可见光分光光度计 (560 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的含量。

检测原理

唾液酸(SA)在氧化剂存在的条件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) (50 assays)	规格 2(Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	1 mmol/L SA 标准品 (1 mmol/L SA Standard)	0.5 mL×1 支	1 mL×1 支	-20°C避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 (Chromogenic Agent)	60 mL×4 瓶	60 mL×8 瓶	2-8°C避光 保存 6 个月

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：紫外-可见分光光度计（560 nm）、恒温水浴箱、涡旋混匀仪、离心机。

耗材：枪头（1000 μL , 200 μL , 10 μL ）、5 mL 玻璃试管、EP 管（10 mL, 2 mL）、吸水纸、擦镜纸。

试剂：双蒸水或去离子水、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M, pH 7.4）。

试剂准备

试剂一从 -20°C 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。

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°C，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，结合本试剂盒的检测范围（0.022-7 mmol/L），选取最佳稀释倍数，进行正式批量实验。不同样本的稀释比例范围如下表（仅供参考）：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	10%小鼠肝匀浆	不稀释
大鼠血浆	不稀释	10%小鼠脑匀浆	不稀释
10%胡萝卜匀浆	不稀释	人胸水	不稀释
人唾液	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°C水浴时间要充分，且沸水液面高于玻璃试管内试剂液面。
- ② 比色时不能将沉淀倒入比色皿，最好用移液器吸入比色皿。

操作步骤

- ① 空白管：样本为血清（浆）、唾液等液体样本时，取 0.1 mL 双蒸水；
样本为组织匀浆时，取 0.2 mL 双蒸水，加入 5 mL 玻璃管；
标准管：样本为血清（浆）、唾液等液体样本时，取 0.1 mL 1 mmol/L 标准品；样本为组织匀浆时，取 0.1 mL 双蒸水和 0.1 mL 1 mmol/L 标准品；
测定管：取 0.1 mL 血清（浆）、唾液等液体样本或 0.2 mL 组织匀浆，加入 5 mL 玻璃管。
- ② 向步骤①中的各管加入 4.0 mL 试剂二。
- ③ 涡旋混匀后，试管口用保鲜膜扎紧，扎一小孔，100℃水浴 15 min（沸水液面高于玻璃试管内试剂液面）。
- ④ 取出后流水冷却， $2325 \times g$ ，离心 10 min。
- ⑤ 取上清液，560 nm，1 cm 光径石英比色皿，用双蒸水调零，测定各管吸光度。（测定时，用移液器吸入比色皿）

操作表

血清（浆）、唾液等液体样本操作表

	空白管	标准管	测定管
双蒸水 (mL)	0.1	--	--
1 mmol/L SA 标准品 (mL)	--	0.1	--
血清(浆)、唾液等液体样本 (mL)	--	--	0.1
试剂二 (mL)	4.0	4.0	4.0

旋涡混匀仪混匀，试管口用保鲜膜扎紧，扎一小孔，100℃水浴 15 min，流水冷却，2325 ×g，离心 10 min。取上清液，560 nm，1 cm 光径石英比色皿，用双蒸水调零，测定各管吸光度。

组织样本操作表

	空白管	标准管	测定管
双蒸水 (mL)	0.2	0.1	--
1 mmol/L SA 标准品 (mL)	--	0.1	--
组织样本 (mL)	--	--	0.2
试剂二 (mL)	4.0	4.0	4.0

旋涡混匀仪混匀，试管口用保鲜膜扎紧，扎一小孔，100℃水浴 15 min，流水冷却，2325 ×g，离心 10 min。取上清液，560 nm，1 cm 光径石英比色皿，用双蒸水调零，测定各管吸光度。

结果计算

血清(浆)、唾液等液体样本中 SA 含量计算公式：

$$\text{SA 含量} \begin{matrix} (\text{mmol/L}) \end{matrix} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c_1 \times f$$

组织中 SA 含量计算公式：

$$\text{SA 含量} \begin{matrix} (\text{mmol/gprot}) \end{matrix} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c_2 \times f \div C_{\text{pr}}$$

注解：

ΔA_1 ：样本 OD 值-空白 OD 值

ΔA_2 ：标准 OD 值-空白 OD 值

c_1 ：标准品浓度（1 mmol/L）

c_2 ：标准品浓度（0.5 mmol/L），1 mmol/L 标准品取 0.1 mL，加 0.1 mL 双蒸水，因此标准品浓度为 $1 \div 2 = 0.5$ mmol/L

C_{pr} ：待测样本的蛋白浓度（gprot/L）

f：样本加入检测体系之前的稀释倍数

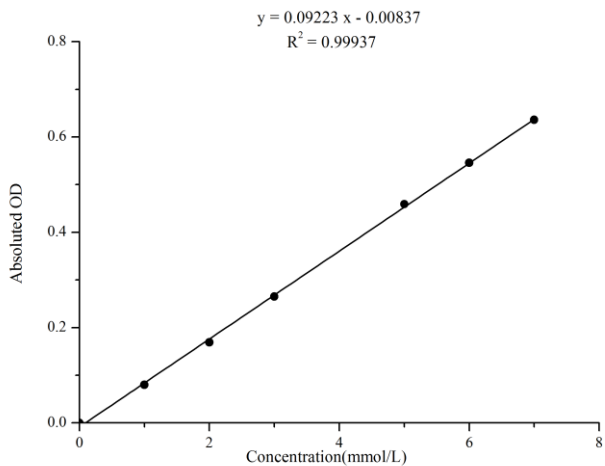
附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.022-7 mmol/L	平均批间差	7.1 %
灵敏度	0.022 mmol/L	平均批内差	3.9 %
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）：



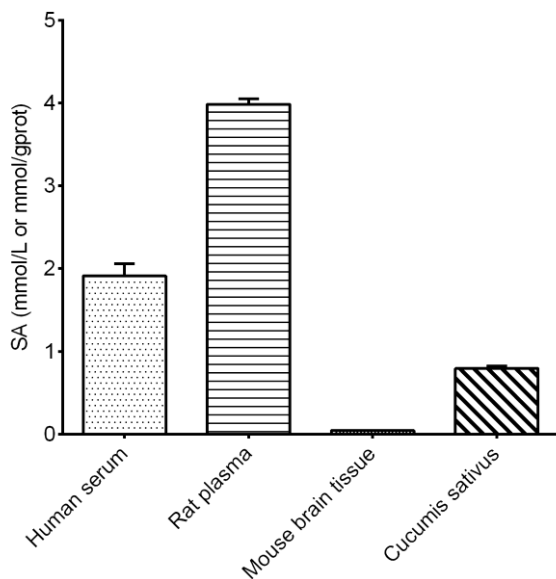
附录2 实例分析

例如检测大鼠血浆：

直接取大鼠血浆0.1 mL，按操作表检测，结果如下：空白管平均OD值为0.003，标准管平均OD值为0.066，测定管平均OD值为0.252，标准管浓度为1 mmol/L，带入公式计算结果为：

$$\text{SA 含量 (mmol/L)} = \frac{0.252 - 0.003}{0.066 - 0.003} \times 1 \text{ mmol/L} = 3.98 \text{ mmol/L}$$

按照说明书操作，测定人血清（加样量100 μL ）、大鼠血浆（加样量100 μL ）、小鼠脑组织（5%组织匀浆的蛋白含量2.64 mg/mL，加样量200 μL ）及黄瓜（10%组织匀浆的蛋白含量0.59 mg/mL，加样量200 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	微量移液器使用不熟练	小心加样,避免液体溅到其它测样管中。
	把沉淀加入了比色皿中	再次离心,用移液器取上清液进行比色
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数,重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本,重新检测

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 欵?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. Yılmaz E, Kaya-Sezginer E, Yılmaz-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.