

## 唾液酸 (SA) 含量检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA2219

产品规格: 100T/96S

### 产品简介:

唾液酸 (Sialic acid, SA), 又称N-乙酰神经氨酸, 是细胞膜上糖蛋白和糖脂的重要成分, 其广泛的存在于生物体中, 参与细胞表面的多种生理功能。

唾液酸在氧化剂存在的条件下与5-甲基间苯二酚形成紫红色络合物, 其在560nm处有最大吸收峰, 通过测定产物在560nm的吸光值, 可以计算出唾液酸含量。



**注意:** 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体110mL×1瓶	2-8℃
显色液	液体35mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体0.5mL×1支	-20℃

溶液的配制:

1. 标准品: 4mmol/L唾液酸标准液。

### 需自备的仪器和用品:

酶标仪/可见分光光度计、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、96孔板/微量玻璃比色皿、冰和蒸馏水。

### 操作步骤:

#### 一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

1. 组织: 按照组织质量(g):提取液体积(m)为 1:5~10 的比例(建议称取 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液)进行冰浴匀浆; 3000rpm 4℃离心 10min, 取上清置冰上待测。
2. 细菌或细胞样本: 收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清, 按照细菌或细胞数量 (10<sup>4</sup> 个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000:1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液) 加入提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (功率 200W, 超声 3s, 间隔 7s, 总时间 3min), 3000rpm 4℃离心 10min, 取上清置冰上待测。
3. 乳液样本: 10000g 4℃离心 10min 后, 去除上层的油脂后使用。
4. 其他液体样本: 直接测定 (如有浑浊, 可离心后使用)。

#### 二、测定步骤

1. 酶标仪/可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 560nm, 可见分光光度计用蒸馏水调零。
2. 在 EP 管中按下表步骤加样:

试剂名称 (μL)	测定管	标准管	空白管
样本	10	-	-
标准品	-	10	-
蒸馏水	-	-	10



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

显色液	300	300	300
-----	-----	-----	-----

100°C沸水浴 15min，冷却至常温，8000rpm，常温离心 10min（如果待测液依旧浑浊，可以加大离心转速）吸取 200μL 上清于微量比色皿或者 96 孔板中，于 560nm 处测定吸光值，分别记为 A 测定、A 标准、A 空白。分别计算  $\Delta A$  测定=A 测定-A 空白， $\Delta A$  标准=A 标准-A 空白（标准管和空白管只需做 1-2 次）。

### 三、唾液酸含量的计算

(1) 按样本蛋白质浓度计算（蛋白浓度需自行测定）：

$$\begin{aligned} \text{唾液酸含量 (mmol/g prot)} &= \Delta A \text{ 测定} \times C \text{ 标} \div \Delta A \text{ 标准} \times V \text{ 样总} \div (C_{\text{pr}} \times V \text{ 样总} \times 1000) \\ &= 0.004 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

(2) 按样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{唾液酸含量 (mmol/g 质量)} &= \Delta A \text{ 测定} \times C \text{ 标} \div \Delta A \text{ 标准} \times V \text{ 样总} \div W \\ &= 0.004 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div W \end{aligned}$$

(3) 按细菌/细胞数量计算：

$$\text{唾液酸含量 (mmol/10}^4\text{cell)} = \Delta A \text{ 测定} \times C \text{ 标} \div \Delta A \text{ 标准} \times V \text{ 样总} \div N = 0.004 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div N$$

(4) 按照液体样本体积计算：

$$\text{唾液酸含量 (mmol/L)} = C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} = 4 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准}$$

V 样总：加入提取液之后的样本体积，0.001L；C 标：标准品的浓度，4mmol/L；C<sub>pr</sub>：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细胞数量，万个。

### 注意事项：

- 100°C沸水浴温度比较高，建议使用封口膜为离心管缠口，或使用螺旋盖的离心管。
- $\Delta A$  测定的测定范围在 0.01-0.7 之间。如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以用蒸馏水稀释样本后再次测定，如果测定吸光值小于线性范围吸光值，需要增加样本量后再次测定，注意同步计算公式。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com