

唾液酸 (SA) 含量检测试剂盒 (微量法)

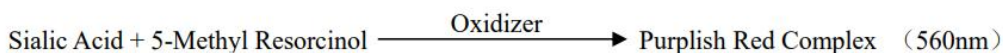
产品货号: BA2219

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 (10⁴ 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	-



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

蒸馏水	-	-	10
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 200 μ L 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 ΔA 测定=A 测定-A 空白, ΔA 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):

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

(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; Cpr: 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。
- ΔA 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

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com