NRH 检测方法
(Neuraminidase)
S31133

1 原理

Sialylactose + H2O $\xrightarrow{\text{Neuraminidase}}$ N-Acetylneuraminate + Lactose

N-acetylneuraminic $\xrightarrow{\text{N-Acetylneuraminateacid aldolase}}$ N-Acetyl-D-mannosamine +Pyruvate

Pyruvate +NADH+H^+ $\xrightarrow{\text{Lactate dehydrogenase}}$ L-Lactate +NAD^+

NADH 的消失可以通过 340nm 的光吸收进行检测。

2 试剂:

A .0.1M PIPES-NaOH 缓冲液，pH 6.5
B .8.0mM Sialyllactose 溶于 A 液中
C .50m MCaCl2
D.100 U/ml NAL
E.100 U/mILDH
F .2.5mM NADH
G.酶稀释液 0.1M PIPES +0. 125%BSA pH6.5

3 操作规程:

3.1 仪器参数设定

若仪器中无已保存参数，按以下参数设定。若已有相关参数，调取后确认。
检测方法:动力学扫描
测量波长: 340nm　　反应时间:600S
延迟时间: 420S　　积分时间: 180S
系数/因子: 4.02　　测量温度: 37+0.5℃

3.2 样品准备

若待测样品为固体，可以按 10mg 样品/1000ul 超纯水比例溶解。溶解后于 2-8 度放置 30min。

3.3 检测方法

3.3.1 在石英比色皿中加入 1.2ml 试剂 B, 0.5ml 试剂 C, 0.25ml 试剂 D, 0.25ml 试剂 E, 0.2ml
试剂 F,于 37 度孵育 5min。

3.3.2 加入 100ul 样品，温和混匀后开始测定。

3.3.3 测定结束后，记录相应数值:起始读数、△A/min、 活性值(U/ml) 。

3.3.4 活性值(U/m1) 范围为 0.05-0.20U/ml, 若超出范围，待测样品需经试剂 G 稀释后.再次进行检测。

3.3.5 计算公式活性(U/m1l)=OA_{340nm}×4.02×df (稀释倍 数)