碧云天网站 微信公众号

碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订货热线：400-168-3301或800-8283301
订货e-mail：order@beyotime.com
技术咨询：info@beyotime.com
网址：http://www.beyotime.com

神经氨酸酶检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装
P0306	神经氨酸酶检测试剂盒	100次

产品简介：

- 神经氨酸酶检测试剂盒(Neuraminidase Assay Kit)是一种用荧光法快速高灵敏检测神经氨酸酶活性的试剂盒。
- 本试剂盒可以检测来源于不同物种的神经氨酸酶的酶活力，包括禽流感病毒的神经氨酸酶的酶活力。
- 试剂盒中提供了纯化的神经氨酸酶作为阳性对照，便于检测体系的建立。
- 试剂盒中提供了可以被神经氨酸酶催化产生荧光的底物，该底物被神经氨酸酶催化后可以产生较强的荧光，从而实现了对神经氨酸酶的快速高灵敏检测。所产生的荧光物质的最大激发波长为322nm，最大发射波长为450nm。激发波长在310-335nm，发射波长在430-470nm有良好的检测效果。
- 用96孔板检测时，一个包装的本试剂盒可以检测100个样品或标准品。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
P0306-1	神经氨酸酶检测缓冲液	10ml
P0306-2	神经氨酸酶	50μl
P0306-3	神经氨酸酶荧光底物	1ml
P0306-4	Milli-Q水	1.2ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20ºC保存，一年有效。神经氨酸酶荧光底物需避光保存。

注意事项：

- 相同体积的情况下，样品中神经氨酸酶的酶活力不宜高过试剂盒中所提供的标准品的酶活力。单位体积内酶活力过高会导致荧光底物相对不足，使测定出来的酶活力低于实际的酶活力。如果样品中酶活力过高，可以适当稀释后再进行测定。
- 神经氨酸酶和神经氨酸酶荧光底物尽量避免反复冻融。
- 试剂盒中所用溶液溶解后4ºC保存，两天有效。如果两天内不能全部用完，建议尽早把留作以后使用的神经氨酸酶和神经氨酸酶荧光底物适当分装后-70ºC保存，-20ºC冻存也可，但有效期会较短。其余试剂直接-20ºC或-70ºC保存即可。
- 需使用荧光酶标仪，并需自备专门用于荧光酶标仪荧光检测的96孔荧光酶标板。或使用可以检测小体积样品的荧光分光光度计。使用荧光分光光度计时参考荧光酶标板的操作方法。
- 由于荧光检测非常灵敏，测定出来的荧光强度有时容易产生波动。一方面要避免灰尘等掉入检测孔中产生荧光干扰，另一方面所有检测最好在同一块检测板上做双份平行检测甚至三份平行检测。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. **阳性和阴性对照检测的准备(参考表1)：**
   a. 在96孔荧光酶标板内每孔加入**70微升神经氨酸酶检测缓冲液**。
   b. 每孔再分别加入**10或0微升神经氨酸酶**。
   c. 每孔再加入**10微升溶解神经氨酸酶样品的溶液**。例如神经氨酸酶在RIPA溶液中，则加10微升RIPA溶液。
   d. 每孔再加入**0或10微升Milli-Q水**使每孔总体积为90微升。
2. **样品检测的准备(参考表1)：**
   a. 在96孔荧光酶标板内每孔加入**70微升神经氨酸酶检测缓冲液**。
   b. 每孔再加入**10微升神经氨酸酶样品**。
   c. 每孔再加入**10微升Milli-Q水**使每孔总体积为90微升。
3. **检测(参考表1)：**
   a. 振动混匀约1分钟。
   b. 每孔加入**10微升神经氨酸酶荧光底物**。
   c. 再振动混匀约1分钟。

d. 37ºC孵育30分钟后进行荧光测定。激发波长为322nm，发射波长为450nm。
如果受仪器所限，不能设置前述波长，激发波长在310-335nm，发射波长在430-470nm也有良好的检测效果。 孵育时间可根据样品中的酶活力适当调整。在酶活力低或样品量少时，可以延长孵育时间(例如延长时间至1、2或4小时)，以提高检测灵敏度。但当酶活力很高时，孵育时间过长会使反应达到平台期，此时宜缩短孵育时间。首次测定时，建议在孵育10、20、30、60、120分钟后分别测定一次荧光强度，以确定比较理想的孵育时间。

表1. 检测体系的设置

	阳性对照	阴性对照	样品
神经氨酸酶检测缓冲液	70μl	70μl	70μl
神经氨酸酶	10μl	—	—
溶解神经氨酸酶样品的溶液	10μl	10μl	—
神经氨酸酶样品	—	—	10μl
Milli-Q水	—	10μl	10μl
神经氨酸酶荧光底物	10μl	10μl	10μl
总体积	100μl	100μl	100μl

4. 计算：

根据检测出来的荧光强度可以计算出样品间神经氨酸酶的相对活力。

使用本产品的文献：

1. Tao L, Chen J, Zheng Z, Meng J, Zhang Z, Chen Y, Luo H, Li H, Chen Z, Hu Q, Wang H. H5N1 influenza virus-like particles produced by transient expression in mammalian cells inducehumoral and cellular immune responses in mice. Can J Microbiol. 2012 Apr;58(4):391-401.
2. Wang S, Li H, Chen Y, Wei H, Gao GF, Liu H, Huang S, Chen JL. Transport of influenza virus neuraminidase (NA) to host cell surface is regulated by ARHGAP21 and Cdc42proteins. J Biol Chem. 2012 Mar 23;287(13):9804-16.
3. G Qian, S Wang, X Chi, H Li, H Wei, X Zhu, Y Chen. The amino-terminal region of the neuraminidase protein from avian H5N1 influenza virus is important for its biosynthetic transport to the host cell surface. Vet J. 2014 Dec;202(3):612-7
4. Wen G, Hu X, Zhao K, Wang H, Zhang Z, Zhang T, Yang J, Luo Q, Zhang R, Pan Z, Shao H, Yu Q. Molecular basis for the thermo stability of Newcastle disease virus. Sci Rep. 2016 Mar 3;6:22492.

Version 2016.12.06