



产品使用说明书

Rhinogen[®] 玻璃酸酶活性检测试剂盒

货号：RA-PH21



目 录

目录	1
产品信息	2
试剂包装	2
存储条件	2
产品综述	3
背景	3
概述	3
操作方法	4
需要的耗材及设备（需自备）	4
试剂准备	4
酶稀释液配制	4
标准品溶液的制备	4
标准曲线的制备	4
供试品溶液的制备	4
底物溶液配制	5
加样	5
标准品、供试品及底物溶液预热	5
加入底物溶液	5
终止液配制	5
反应终止	5
检测	6
数据处理	6
供试品效价计算	6
系统适用性标准	6
注意事项	6
相关产品	7
联系我们	8

产品信息

试剂包装

Rhinogen®玻璃酸酶活性检测试剂盒包装规格如下：

名称	货号	储存温度	规格
Rhinogen®玻璃酸酶活性检测试剂盒	RA-PH21	-20℃	96tests

试剂盒组分：

玻璃酸酶活性参考品		-20℃	冻干粉/瓶×1
20×水解物	RA-PH21A	-20℃	1.25ml/瓶×2
底物储备液	RA-PH21B	-20℃	1ml/瓶×2
血清储备液	RA-PH21C	-20℃	5ml/瓶×2
蛋白保护剂	RA-PH21D	-20℃	0.125ml/瓶×2
缓冲液 A	RA-PH21E	-20-10℃	30ml/瓶×1
缓冲液 B	RA-PH21F	-20-10℃	20ml/瓶×1

存储条件

本试剂盒采用干冰运输。收到试剂盒后，请立即置于 -20℃储存。为方便后续使用，缓冲液A和缓冲液B也可单独存储于2~8℃。

产品综述

背景

玻璃酸酶（hyaluronidase, HAase）为一种能水解透明质酸的酶（透明质酸为组织基质中具有限制水分及其它细胞外物质扩散作用的成分）。玻璃酸酶在医学领域具有重要地位，它能够暂时降低细胞间的粘性，从而帮助皮下输液更快扩散，促进局部积聚的渗出液或血液的吸收，这一特性使得玻璃酸酶成为一种有效的药物扩散剂。临床用作药物渗透剂，促进药物的吸收，促进手术及创伤后局部水肿或血肿消散。

概述

本试剂盒检测玻璃酸酶活性采用的是浊度法，其原理为：一定量的酶和过量的底物在37°C孵育30分钟，玻璃酸酶水解部分底物，剩余未被水解的底物与过量的酸化血清反应，生成底物-血清蛋白配位化合物，此化合物为混悬液，于640nm波长下可测得该配位化合物的吸光度。在规定条件下，吸光度与酶效价呈线性关系，以不同效价的标准品与其相应的吸光度绘制标准曲线，由标准曲线可计算出供试品的效价。

操作方法

需要的耗材及设备（需自备）

1. 纯化水；
2. 低吸附 96 孔板（推荐使用：Corning#Cat. 3474）；
3. 单通道、八通道移液器；
4. 低吸附移液器吸头（推荐使用：Thermo #Cat.3551-05-HR；QSP#Cat.111-NXL-R100S-LR-Q）；
5. 低吸附离心管（推荐使用：Axygen#Cat.MCT-150-L-C）
6. 试剂槽（可用一次性细胞培养皿代替）；
7. 漩涡振荡器；
8. 计时器；
9. 微孔板恒温振荡器；
10. 可进行吸光度检测（波长设置为 640nm）的酶标仪。

试剂准备

从冰箱取出试剂盒，室温解冻后使用。

酶稀释液配制

试剂组分	配制 10ml 所需体积	配制 V×10ml 所需体积
20×水解物（RA-PH21A）	0.5ml	0.5ml×V
缓冲液 A（RA-PH21E）	5ml	5ml×V
蛋白保护剂（RA-PH21D）	50μl	50μl×V
纯化水（自备）	4.5ml	4.5ml×V

标准品溶液的制备

取玻璃酸酶活性参考品(473 IU/瓶)1瓶，加入0.63ml纯化水复溶，复溶后体积为0.66ml，制成标准品溶液，浓度为717 IU/ml。

标准曲线的制备

用酶稀释液将标准品溶液按下表稀释至0.6 IU/ml、0.5 IU/ml、0.4 IU/ml、0.3 IU/ml、0.2 IU/ml、0.1 IU/ml、0 IU/ml，平行制备2份。

标准品编号	效价 (IU/ml)	标准品体积 (μl)	酶稀释液体积 (μl)
/	100	100	617
/	10	100	900
/	1	100	900
S1	0.6	600	400
S2	0.5	500	100
S3	0.4	400	100
S4	0.3	300	100
S5	0.2	200	100
S6	0.1	100	100
S7	0	NA	150

供试品溶液的制备

按供试品的预估效价用冷的酶稀释液将供试品稀释至1 IU/ml（稀释倍数D），每次稀释时，供试品的取样体积不得小于100μl。按下表继续稀释至0.5 IU/ml、0.4 IU/ml、0.3 IU/ml，每个浓度平行稀释2份，共6份供试品溶液。

样品编号	效价(IU/ml)	供试品体积 (μl)	酶稀释液体积 (μl)	总稀释倍数
1	0.5	500	500	D/0.5×1

2	0.4	500	125	D/0.4×1
3	0.3	300	100	D/0.3×1

底物溶液配制

参考下表体系进行底物溶液的配制，应现配现用。

试剂组分	配制 4ml 所需体积	配制 V×4ml 所需体积
底物储备液 (RA-PH21B)	1ml	1ml×V
缓冲液 A (RA-PH21E)	1.5ml	1.5ml×V
纯化水	1.5ml	1.5ml×V

加样

使用单道移液器将不同浓度标准品溶液及供试品分别加样至低吸附 96 孔板，25μl/孔，均作 2 复孔。另设置酶稀释液作为 Plate Blank (PB)，50μl/孔。加样板设计 (示例) 如下：

	1	2-3 (标准曲线 1)	4-5 (标准曲线 2)	6-7	8	9	10	11	12
A		S1	S1	供试品 (0.5-1)					
B		S2	S2	供试品 (0.5-2)					
C		S3	S3	供试品 (0.4-1)					
D		S4	S4	供试品 (0.4-2)					
E		S5	S5	供试品 (0.3-1)					
F		S6	S6	供试品 (0.3-2)					
G		S7	S7						
H		PB	PB						

标准品、供试品及底物溶液预热

将加样后的低吸附 96 孔板盖上盖子，与底物溶液一起放置于 37°C 孵育 30 分钟。

加入底物溶液

取出低吸附 96 孔板，除 PB 孔外每孔加入 25μl 预热的底物溶液，震荡 10 秒，37°C 孵育 30 分钟。

注：此步骤底物溶液加入顺序应按照加样顺序由标准品到供试品快速加入，加完标准品后需更换吸头再向样品中加入底物溶液。

终止液配制

参考下表体系进行终止液的配制，现配现用。

试剂组分	配制 15ml 所需体积	配制 V×15ml 所需体积
血清储备液 (RA-PH21C)	5ml	5ml×V
缓冲液 B (RA-PH21F)	10ml	10ml×V

反应终止

孵育结束后，在所有加样孔内加入 200μl 终止液，包括 PB 孔。震荡 10 秒，室温放置 15 分钟。

检测	在 640nm 的波长处测定吸光度。
数据处理	所有数据扣除 PB 孔读值，以标准品溶液效价 (IU/ml) 为横坐标，吸光度为纵坐标，进行线性拟合。
供试品效价计算	供试品溶液测得的吸光度回归标准曲线方程得到各供试品溶液测得的效价，再按下式计算：供试品每 1mg 的单位 (IU/mg) = 各供试品溶液测得的效价 (IU/ml) × 总稀释倍数 / 供试品蛋白质浓度 (mg/ml)。算出 6 份供试品溶液的平均数，即为本品效价单位。
系统适用性标准	<ol style="list-style-type: none">1. 标准曲线 R^2 应 ≥ 0.98。2. 6 份供试品溶液检测结果的 RSD 应 $< 10\%$。3. 若任何一项系统适用性未通过，则本次试验无效。
注意事项	<ol style="list-style-type: none">1. 本检测试剂盒仅供有实验室安全常识的专业技术人员使用。在使用此产品之前，请务必仔细阅读产品说明书。2. 终止液试剂为酸性溶液，操作过程中需要格外注意，防止与皮肤和眼睛接触。

相关产品

产品名称	货号
重组人透明质酸酶	RA-PH20

联系我们

如果您需要帮助，我们的客户支持专家可以通过电话和 email 为您提供帮助：

- 电 话：[0512-87663137](tel:0512-87663137)
 - 技术支持：techserv@rhinobio.com
-

RHINO BIO



上海瑞诺生物科技有限公司
苏州瑞特佰生物科技有限公司
网 址 : www.rhinobio.com
电 话 : 0512-87663137
邮 箱 : techserv@rhinobio.com

