天净沙系列

CAT#: 7-C 9007-28-7-230

低温运输，-20℃保存

天净沙

# 硫酸软骨素含量测定试剂盒(230 nm 分光光度法)

# Chondroitin Sulfate Assay Kit

## 使用手册 V0.5

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

## 产品及特点

本产品是用于检测硫酸软骨素（Chondroitin sulfate，CS）含量的试剂盒。其原理是硫酸软骨素 ABC 酶催化硫酸软骨素反应生成不饱和糖醛酸化合物。不饱和糖醛酸化合物在 230 nm 有光吸收，通过监测光吸收变化来测定硫酸软骨素的含量。本产品有如下特点：

1. 操作简单快捷。
2. 即开即用，用户不用单独准备各种试剂。
3. 提供硫酸软骨素阳性对照溶液，便于在遇到问题时分析原因。
4. 适用于检测人工合成的、或从各种材料中提取的硫酸软骨素样本。
5. 检测的线性范围是 a mM 至 b μM，检测下限是 X μM。
6. 本产品足够 100 次 1 mL 体系的比色皿检测或 400 次 250 μL 体系的 96 孔板检测。
7. 本产品只能用于科研。

## 规格及成分

本产品使用小扁盒包装

| 成份 | 编号 | 规格 | 包装 |
|---|---|---|---|
| 硫酸软骨素含量测定反应液 | 7-C 9007-28-7r | 120 mL | 125 mL 棕色瓶 |
| 硫酸软骨素干粉 | 7-C 9007-28-7s | 100 T | 1.5 mL 本色管 |
| 硫酸软骨素 ABC 酶干粉 | 7-C 9007-28-7e | 100 T | 1.5 mL 红盖管 |
| 使用手册 | 7-C 9007-28-7-230sc | 1 份 | 无 |

## 运输及保存

低温运输，-20℃保存。有效期一年。

## 自备物品

超纯水、分光光度计

## 使用方法

**一、首次使用本试剂盒时试剂的配制**

1. 配置 1 mM 硫酸软骨素阳性对照溶液：在装有硫酸软骨素干粉的瓶中加入 10 mL 自备超纯水，颠倒摇晃 20 次溶解得到 1 mM 硫酸软骨素阳性对照溶液。没用完的此溶液需要-20℃保存。
2. 配置硫酸软骨素 ABC 酶溶液：在装有硫酸软骨素 ABC 酶干粉的管中加入少量硫酸软骨素含量测定反应液，轻柔颠倒 20 次溶解后将溶液全部转移至硫酸软骨素含量的瓶中，颠倒混匀后得到硫酸软骨素 ABC 酶溶液。没用完的此溶液需要-20℃保存。
3. 用自选方式制备待测样本，样本溶于水或碳酸盐缓冲液中，缓冲液 pH 值控制为 7.5。

**二、标准曲线梯度稀释液的制备**

4. 每次测量都应制作标准曲线，下面以 6 个稀释度的标准曲线为例。

5. 标记 1-6 个 1.5 mL 离心管，每个管中加入 0.7 mL 超纯水。

6. 将第 1 步制备的 1 mM 硫酸软骨素阳性对照溶液为 1 号管样品。

7. 2 号管中加入 0.7 mL 在第 1 步制备的 1 mM 硫酸软骨素阳性对照溶液，充分震荡 1 分钟，得 0.5 mM 硫酸软骨素溶液。放冰上待用。

8. 换枪头，在 3 号管中加入 0.7 mL 0.5 mM 硫酸软骨素溶液(上步稀释所得)，充分震荡 1 分钟，得 250 μM 硫酸软骨素溶液。放冰上待用。

9. 重复上面的操作直到得到 1 mM、0.5 mM、250 μM、125 μM、62.5 μM、31.25 μM 共 6 个稀释度的样品。放冰上待用。

**三、用光径 1 cm 的比色皿测定光吸收**

10. 假设有 N 个样本，每个样本做一次重复，则标记 N+7 个 1.5 mL 离心管，其中 N 个用于待测样本，多出的 6 个用于标准曲线制备，另外一个用做阴性对照。

11. 按下表在各管中加入各成分。根据分光光度计一次可以同时测定的样本数决定每次加几个样本：

| 成分 | N 个样本管 | 阴性对照 | 6 个标曲管 |
|---|---|---|---|
| 硫酸软骨素<br>含量测定反应液 | 各 880 μL | 880 μL | 880 μL |
| N 个待测样本 | 各 100 μL | 不加 | 不加 |
| 第 10 步所得 6 个样 | 不加 | 不加 | 各 100 μL 分别到对应的管 |
| 超纯水 | 不加 | 100 μL | 不加 |
| 硫酸软骨素 ABC 酶溶液 | 各 20 μL | 20 μL | 20 μL |

12. 将样本混合后静置 10 分钟。然后使用分光光度计测定每个样本在 230 nm 的光吸收读数，测前用超纯水调零。共得 N+7 个读数。

**四、数据处理**

13. 计算真实 OD230 光吸收：每个样本测得的光吸收减去阴性对照的光吸收即为每个样本的光吸收。共 N+6 个读数。

14. 制备标准曲线：以硫酸软骨素溶液的浓度为横轴，以其真实 OD230 光吸收为纵轴，绘制标准曲线。

15. 将 N 个待测样品的 OD230 值带入标准曲线方程，即可计算出每个待测样品中的硫酸软骨素的浓度。

**四、多孔板酶标仪检测**

| | |
|---|---|
| | 16. 同上，只是所有反应体系按比例缩小使得终体积跟酶标用多孔板板兼容，最后在 230 nm 测定光吸收。 |
| **关联产品** | 尿素含量测定试剂盒 |