Seebio Biotech (Shanghai) Co., Ltd.
Building 5,No.508 Chuanhong Road,
Pudong,Shanghai 201202, P.R.China
Tel:+0086-21-50272981*6217
Fax: +0086-21-50272982
E-mail: service@seebio.cn
Web: www.seebio.cn

Seebio®硫酸软骨素(Chondroitin sulfate CS)AC 定量检测试剂盒（酶法）说明书

【产品名称】

Seebio®硫酸软骨素（Chondroitin sulfate CS）AC 定量检测试剂盒（酶法）

【产品编码】

DDM1618A

【包装规格】

货号	序号	名称组份及包装规格
DDM1618A-96T	1	标准品（干粉）：3×1.0 mg
	2	稀释液：1×10ml
	3	酶（粉剂）：1 瓶
	4	96 孔 UV 微孔板：1 块

【检测原理和用途】

硫酸软骨素（Chondroitin sulfate, CS）是一种糖胺聚糖，根据二糖单元硫酸化位点的不同可细分为 CS-A、CS-B、CS-C、CS-D、CS-E、CS-F 等十一种类型。牛、猪、鸡等软骨来源的 CS 以 CS-A 为主；鲨鱼以 CS-C 为主；鱼类、鲨鱼和鱿鱼可得到 CS-D；鱿鱼以 CS-E 为主。CS 在角膜修复、免疫调节、保护软骨、调节肿瘤生长、促进生物矿化和抗病毒等方面展现出生物活性，已被广泛应用于生物粘合剂、药物递送系统、细胞支架和表面涂层等，具有良好的生物相容性、可设计性等优势。本试剂盒利用硫酸软骨素 AC 的特异性降解酶，将 CS 分解为不饱和糖醛酸，并在 232nm 波长处产生特异性光吸收，通过标准曲线法可实现对样本中 CS 含量的精确测定。

【特点】

1.特异性强

本试剂盒采用基于 CS-AC 特异性水解酶的检测方法，具有 CS-AC 的专属特异性。

2.灵敏度高

本试剂盒检测 CS 的线性范围介于 7 至 1000 μg/ml 之间，能够满足多样化需求。

3.操作便捷

操作流程简化，仅需 30 分钟的反应时间。

4.成本效益高

无需复杂检测设备，仅需酶标仪即可实现，适宜于大规模检测及常规分析。

【使用说明】

一、工前准备

1.设备准备

请事先准备好酶标仪、移液器、无菌离心管、温箱等。

2.标准品工作液制备

取一支标准品，准确加入 1000μL 稀释液，混合均匀后形成 1000 μg/ml 的 CS 溶液，随后通过倍比稀释方法，制备获得 1000μg/ml、500μg/ml、250μg/ml、125μg/ml 、 62.5μg/ml 、 31.3μg/ml 、 15.6μg/ml 、7.8μg/ml 的标准品溶液，各 500μl。

3.酶工作液制备

取酶，加入 600μl 稀释液，轻轻混匀，室温溶解 10min，形成 10×母液。将之分装 6 支，100μl/支，-20℃可稳定保存 6 个月。

使用时，将 10×母液用稀释液稀释 10 倍（即每支加入 900ul 稀释液），形成酶工作液。

4.样品制备

用稀释液溶解或稀释样品，必要时可通过离心和/或 0.22μm 过滤处理后获得上清用于后续检测，避免有不溶性物质存在。调整样品中的 CS 浓度至 7~1000g/mL 范围内。

二、 检测步骤

1.预热

将稀释液和配制好的底物液于 37℃保温 5min。酶标仪开机预热 30min，调节检测波长至 232 nm。

2.标准曲线绘制

（1）标记好标准品的孔位，每个标准品孔设置 2 重复，在标准品孔内加入酶工作液，50μl/孔。

（2）分别取各浓度的标准品工作液，加入对应标记好的 UV 酶标板孔内，200μl/孔。

（3）立即读取 OD_{232} 数值，记为 OD_{T0} 值。

（4）于 37℃恒温孵育 30min。

（5）读取第 30min 时的 OD_{232} 数值，记为 OD_{T1} 值。

（6）以标准品浓度为 x 轴，对应ΔOD（OD_{T1}-OD_{T0}）值为 y 轴，绘制标准曲线，R^2≥0.9900。

3.样品测定

（1）UV 酶标板上标记好样品孔和溶剂对照孔。

（2）在样品孔和对照孔内加入酶工作液，50μl/孔。

（3）分别取 200μl 样品和溶剂，加入样品孔和溶剂对照孔内，200 μl/孔。

（4）立即读取 OD232 数值，记为 ODT0 值。

（5）于 37℃恒温孵育 30min。

（6）读取第 30min 时的 OD232 数值，记为 ODT1 值。

（7）计算ΔOD（ODT1-ODT0）值，根据标准曲线和样品稀释倍数计算样品中硫酸软骨素 AC 的含量。

三、结果计算

Xi=d*(ΔOD-b)/a

式中：

Xi —— 样品中的 CS 浓度（μg/ml）；

d—— 样品稀释倍数；

ΔOD—— 0min 和 30min 的 OD232 差值；

a —— 标准方程式中的斜率 a；

b —— 标准方程式中的截距 b。

【储存条件和有效期】

2-8℃避光储存，有效期 12 个月。

【注意事项】

1.透明质酸会干扰试剂盒检测，样品中不应含有。

2.本品仅供科研用途，不作为药物、诊断或其它用途。

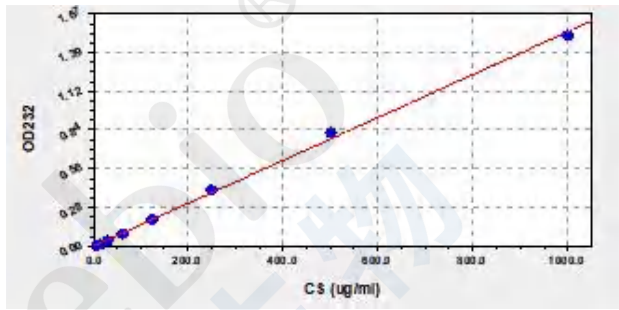
3.使用前应穿实验服并配戴一次性手套或外科手术用手套。

【应用举例】

1. 获得测定值，计算平均吸光度（△OD）

CS浓度（μg/ml）	REP1		REP2		REP3		平均ΔOD
	OD_{T0}	OD_{T30}	OD_{T0}	OD_{T30}	OD_{T0}	OD_{T30}	
1000.0	1.084	2.533	0.969	2.483	0.847	2.449	1.521
500.0	0.713	1.481	0.665	1.464	0.609	1.498	0.819
250.0	0.480	0.858	0.446	0.851	0.408	0.844	0.406
125.0	0.332	0.514	0.317	0.505	0.306	0.513	0.193
62.5	0.245	0.334	0.240	0.333	0.233	0.333	0.094
31.3	0.195	0.237	0.195	0.241	0.190	0.239	0.046
15.6	0.159	0.176	0.159	0.177	0.160	0.181	0.019
7.8	0.138	0.147	0.141	0.149	0.137	0.146	0.009

2. 绘制标准曲线，拟合标准方程式



标准方程：Y= aX+b，其中：a=0.0015，b=0.0044，R^2 = 0.9985

【技术支持服务】

您若有疑问或反馈，请联系

Tel: +0086-21-50272981*6217 或

Email: market@seebio.cn

西宝生物的二维码