



葡聚糖硫酸盐 (Dextran Sulfate Salt) 检测试剂盒

(分光光度法, 200 次)

应用: 定量检测细胞培养基、蛋白纯化过程及终产物中葡聚糖硫酸盐残留

产品编号: NEGED0018

本试剂盒仅供科研使用, 不得用于临床及诊断使用!

目录

一、背景介绍.....	2
二、实验原理.....	2
三、试剂盒组分.....	2
四、实验需要但未提供的耗材及设备.....	2
五、样本收集和保存.....	2
六、实验前的准备.....	3
七、试剂的准备.....	3
八、操作步骤.....	3
九、注意事项.....	4
十、数据处理.....	4
十一、质量控制.....	5
十二、联系我们.....	5



一、背景介绍

葡聚糖硫酸盐 (Dextran Sulfate Salt, 简称 DSS) 是一种白色至灰白色粉末, 易溶于水, 并以钠盐形式存在, 分子量范围 3kDa 至 2000kDa。葡聚糖硫酸盐可作为抗凝剂、抗病毒药物以及辅料。在细胞培养基中加入平均分子量为 8000Da 的葡聚糖硫酸盐, 可抑制蛋白质与细胞壁的结合, 从而提高细胞的生长和生产力。经实验发现, 葡聚糖硫酸盐具有一定毒性, 它的毒性依赖于剂量和分子量以及给药途径。研究显示对一组兔子每日服用 20mg/Kg 葡聚糖硫酸盐两周会造成全身毒性作用。因此, 需要采用合适的分析方法控制或者检测葡聚糖硫酸盐在生物样品的含量, 保证药物的质量安全。

二、实验原理

新亚甲蓝氯化锌复盐是一种阳离子染料, 可与带负电荷的葡聚糖硫酸盐发生定量的离子缔合反应形成蓝色复合物, 在 530nm 波长下有最大吸收, 通过分光光度法可测定葡聚糖硫酸盐的含量。

三、试剂盒组分

请按照试剂标签提示的贮存条件存放试剂, 并请在保质期前使用。

	名称	规格	数量	保存
1	葡聚糖硫酸盐 (100 μ g/ml)	1mL	2 管	室温
2	新亚甲蓝氯化锌复盐溶液 (200 \times)	200 μ L	1 瓶	室温, 避光

四、实验需要但未提供的耗材及设备

- | | |
|---------------------------------|--------------------|
| 1. 移液器: 10 μ L-1000 μ L | 6. 酶标仪 (530nm 滤光片) |
| 2. 多道移液器 | 7. 高速离心机 |
| 3. 去离子水或超纯水 1L | 8. 迷你离心机 |
| 4. EP 管 | 9. 数据分析及绘图软件 |
| 5. 普通 96 孔板 | |

五、样本收集和保存

1. 细胞裂解液: 悬浮细胞直接离心取细胞沉淀。贴壁细胞需用胰酶消化后离心取细胞沉淀。检测某些指标时不能用胰酶消化。用 PBS 洗 3 遍。用少量 PBS 重悬细胞, 超声或者反复冻融的方法裂解细胞膜, 1500 \times g (或 5000rpm) 离心 15 分钟分钟后取上清, -20 $^{\circ}$ C 或 -80 $^{\circ}$ C

分装保存备用。

2. 细胞上清液：收集培养的细胞， $1000\times g$ （或 3000rpm）离心 15 分钟，取上清， -20°C 或 -80°C 分装保存备用。

六、实验前的准备

1. 样本的准备：将化冻后的冻存样本，混匀后，10000rpm 离心 1 分钟，取上清作为待检样本备用。
2. 样本的稀释倍数：如果您的样本预测浓度高于本试剂盒最高检测限度，建议使用超纯水或去离子水对样本进行稀释。

注意：

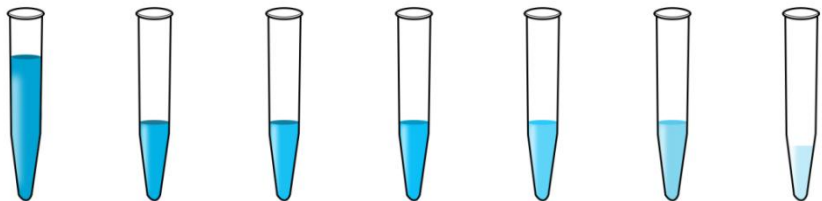
- ◆ 若您使用说明书中未列举的样本，请进行预实验看本试剂盒是否适合您的实验。
- ◆ 由于在细胞稳定性，细胞数目，及采样时间上存在差异，细胞培养上清样本可能无法被本试剂盒检测。
- ◆ 建议您使用新鲜的或者储存时间不长的样本用于分析测试。

七、试剂的准备

1. 3%TCA 的准备：准确称量 3g TCA,完全溶解于 100ml 超纯水或去离子水。
2. 1M 氢氧化钠溶液：称取氢氧化钠 40g，加超纯水溶解后定容至 1L，混匀。

八、操作步骤

1. 样品预处理：取待测样本溶液2mL，与1mL 3%TCA溶液涡旋混匀，静置30分钟，10000rpm 离心5分钟，取上清液2mL，使用1M NaOH溶液调节pH至6.2-6.7，定容至2.5mL作为待测样本。注：如果样本体积较少，在保持样本与TCA比例不变情况下，调整两者体积。
2. 标准品的稀释：配置葡聚糖硫酸盐（DSS）标准品时提前标记6支EP管，分别加入一定体积的超纯水和100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准品（参照下图）

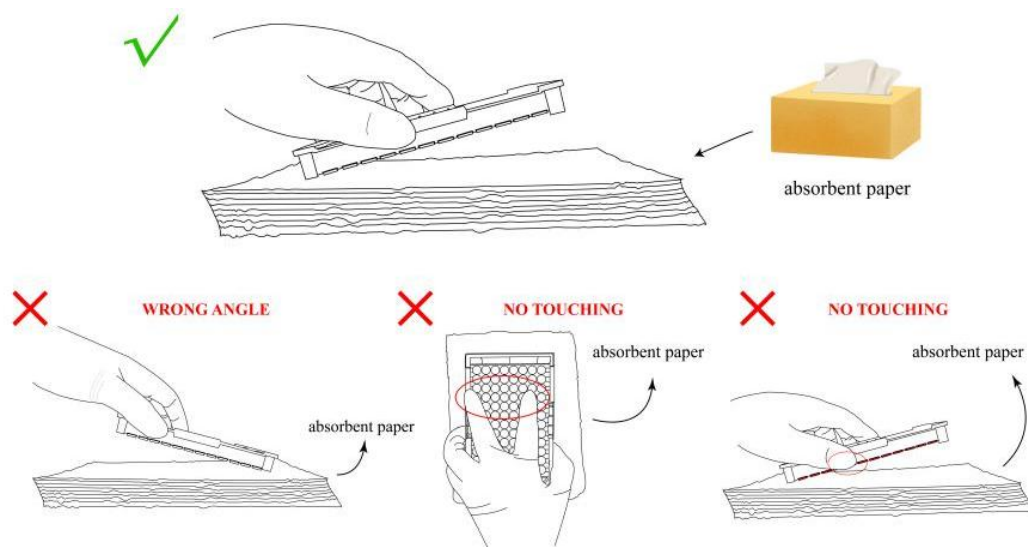


编号/浓度	S1 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$	S2 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$	S3 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	S4 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$	S5 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$	S6 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Blank 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$
标准品母液 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)	600 μL	90 μL	30 μL	15 μL	6 μL	3 μL	0 μL
水	900 μL	210 μL	270 μL	285 μL	294 μL	297 μL	100 μL

3. 加样：取100 μ L标准品或样本（原液或稀释液）加入微孔板中。空白对照（Blank Control）加入100 μ L的超纯水即可。
4. 新亚甲蓝氯化锌复盐工作液（1 \times ）：按照100 μ L/孔的量，计算标准品及样本孔数（建议N+5）并配置对应体积的工作液。
5. 显色：将新亚甲蓝氯化锌复盐工作液（1 \times ）加入含标准品及样品的孔中，室温振荡1min混匀，静置5-10分钟即可读板（整个过程需**注意避光**）。
6. 读板：将96孔板转移到酶标仪上，在530nm下读取吸光度值。

九、注意事项

1. 样本收集注意事项：建议所有标准品及样本都设置复孔（N=2）。向微孔中加入试剂或样本后，请轻轻震荡使液体混匀，并尽量保证不要有气泡。
2. 实验操作注意事项：
 - (1) 由于新亚甲蓝氯化锌复盐溶液是光感性的试剂，使用前请勿长时间暴露于可见光下。
 - (2) 反应时间的控制：加入氯化锌复盐后5-10分钟内读板即可。
 - (3) 标准曲线的 $R^2 \geq 0.95$ 。
 - (4) 拍板示意图：



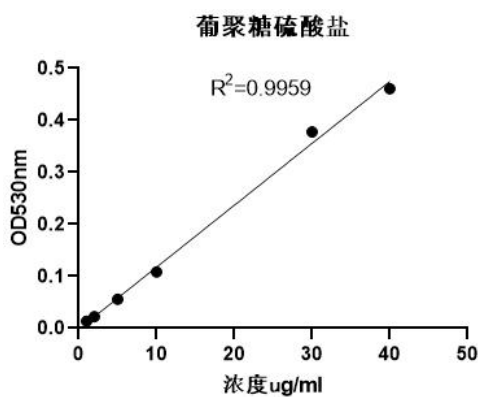
十、数据处理

1. 对样本及标准品各自对应的复孔 OD 值取平均值，带入标曲。
2. 以标准品的 OD 作为 Y 值，标准品的浓度作为 X 值，推荐选择直线回归拟合。



- 3. 将样本 OD 代入到标准曲线方程中计算样本中 DSS 的浓度。
- 4. 以下曲线仅供参考。

附件一、标准曲线实例



$\mu\text{g/mL}$	OD530
40	0.4605
30	0.3775
10	0.108
5	0.0555
2	0.0225
1	0.0135

十一、质量控制

- 1. 批内差 CV%: <5
- 2. 批间差 CV%: <5
- 3. 回收率%: 80-100
- 4. 灵敏度:

最低检测限 (LOD) : 1 $\mu\text{g/mL}$

最低定量限 (LOQ) : 2 $\mu\text{g/mL}$

十二、联系我们

公司地址: 上海市浦东新区紫萍路889弄6号楼

网址: www.cellgenebio.com或www.bluegene.cc或www.elisakit.cc

联系电话:400-882-6373/021--61106433/021--61106434/021-61106435/021--61106436

国内市场部	
售前一	QQ: 2247355151 或邮箱: sale_bluegene@163.com
售前二	QQ: 3247299548 或邮箱: sale_cellgene@163.com
技术部售后	tech@bluegene.cc
其他咨询	sales@bluegene.cc