

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K794-M

产品规格: 48T(46 samples)/96T(94 samples)

检测仪器: 酶标仪(340 nm)

Elabscience®角鲨烯合成酶 (SQS) 比色法测试盒

Squalene Synthase (SQS) Activity

Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清(浆)、动物组织以及细胞样本中角鲨烯合成酶(SQS)的活性。

检测原理

角鲨烯合成酶(Squalene Synthase, SQS)参与异戊二烯生物合成途径,其催化作用是甾醇生物合成的第一个限速步骤。角鲨烯合成酶可在辅因子的共同作用下生成角鲨烯。本试剂盒的作用原理为辅因子在 340 nm 处可以测得吸光度,催化反应消耗辅因子的量与角鲨烯合成酶活性成正比,可根据单位时间吸光度值的变化计算角鲨烯合成酶活性。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 (Extraction Solution)	50 mL×1 瓶	50 mL×2 瓶	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	缓冲液 (Buffer Solution)	7 mL×1 瓶	13 mL×1 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 A (Substrate A)	粉剂×2 支	粉剂×4 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	底物 B (Substrate B)	0.12 mL×1 支	0.24 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
	96 孔紫外酶标板	1 板		
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明: 试剂严格按上表中的保存条件保存, 不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂, 使用前请先离心, 以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器: 酶标仪(340 nm)、37°C 恒温箱

试剂准备

① 检测前，所有试剂需平衡至25°C。

② 试剂三工作液的配制：

取一支试剂三粉剂用3 mL试剂二溶解得到试剂三工作液，未使用完的试剂三工作液可-20°C避光保存三天。

③ 工作液的配制：

按试剂四：试剂三工作液体积比=1:49混匀。例如，取10 μL试剂四、490 μL试剂三工作液混匀，按需配制，现配现用。

样本准备

① 样本处理

血清(浆)样本：可直接测定。

组织样本：按组织样本质量(g)：试剂一体积(mL) = 1:9的比例进行匀浆，例如，0.1 g小鼠肝组织，加入0.9 mL试剂一，4°C，10000 × g离心10 min后取上清待测。

细胞样本：取 1×10^6 个细胞加入 200 μL 试剂一进行匀浆，4°C，10000 × g离心10 min后取上清待测。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围0.44 - 16.62 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%大鼠肝组织	不稀释	1×10^6 个 Hela 60 细胞	不稀释
10%小鼠肝组织	不稀释	大鼠血浆	不稀释
10%小鼠肺组织	不稀释	猪血浆	不稀释
10%小鼠肾组织	不稀释	人血浆	不稀释

注：稀释液为试剂一。

实验关键点

试剂四体积较少，使用前可适当离心。

操作步骤

- ① 向对照孔中加入 10 μL 双蒸水；
向测定孔中加入 10 μL 待测样本。
- ② 向对照孔、测定孔中加入 100 μL 工作液；
- ③ 酶标仪于 340 nm 处检测各孔吸光度值 A_1 。
- ④ 37°C 孵育 40 min，340 nm 处再次检测各孔吸光度值 A_2 。

操作表

	对照孔	测定孔
双蒸水(μL)	10	--
待测样本(μL)	--	10
工作液(μL)	100	100
酶标仪于 340 nm 处检测各孔吸光度值 A_1		
37°C 孵育 40 min，340 nm 处再次检测各孔吸光度值 A_2		

结果计算

1. 血清（血浆）样本中角鲨烯合成酶酶活计算公式：

定义：37°C 条件下，每升血清（浆）每分钟催化底物消耗 1 μmol NADPH 所需要的酶量为一个活力单位。

$$\text{角鲨烯合成酶活力 (U/L)} = \frac{\Delta A_{\text{测}} - \Delta A_{\text{对}}}{\varepsilon \times d} \times \frac{V_1}{V_2} \div T \times f \times 1000$$

2. 组织样本中角鲨烯合成酶酶活计算公式：

定义：37°C 条件下，每千克组织每分钟催化底物消耗 1 μmol NADPH 所需要的酶量为一个活力单位。

$$\text{角鲨烯合成酶活力 (U/kg wet weight)} = \frac{\Delta A_{\text{测}} - \Delta A_{\text{对}}}{\varepsilon \times d} \times \frac{V_1}{V_2} \div \frac{m}{V} \div T \times f \times 1000$$

3. 细胞样本中角鲨烯合成酶酶活计算公式：

定义：37°C 条件下，每 1×10^6 个细胞每分钟催化底物消耗 1 μmol NADPH 所需要的酶量为一个活力单位。

$$\text{角鲨烯合成酶活力 (U/10^6)} = \frac{\Delta A_{\text{测}} - \Delta A_{\text{对}}}{\varepsilon \times d} \times \frac{V_1}{V_2} \div \frac{n}{V_3} \div T \times f$$

注解：

$\Delta A_{\text{测}}$ ：测定孔变化吸光度值， $A_1 - A_2$

$\Delta A_{\text{对}}$ ：对照孔变化吸光度值， $A_1 - A_2$

ε ：摩尔消光系数，6.22 L/mmol/cm

d：比色光径，0.5 cm

V_1 ：检测反应总体积，110 μL

V_2 ：样本加入体积，10 μL

m：匀浆样本质量，0.1 g

V：组织匀浆液体积，0.9 mL

T：孵育时间，40 min

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

n: 细胞个数, 1×10^6 个

V_3 : 细胞匀浆液体积, 0.2 mL

1000: 单位换算, $1 \text{ mmol} = 1000 \text{ } \mu\text{mol}$

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.44-16.62 U/L	批间差	2.1-7.2%
灵敏度	0.44 U/L	批内差	1.9-5.0%
回收率	95-109%		

附录2 实例分析

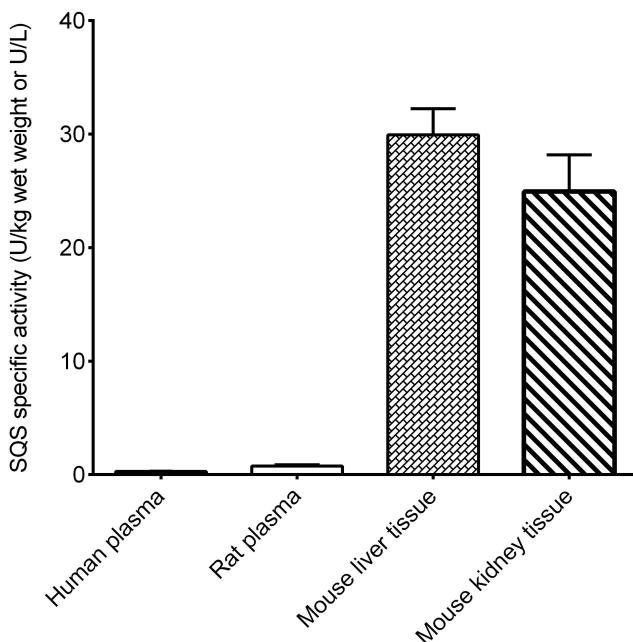
例如检测小鼠肝组织(数据仅供参考):

取 10 μL 10%小鼠肝组织上清液,按操作表操作,结果如下:测定孔初始吸光度值 A_1 为 0.599,反应 40 min 后测得吸光度值 A_2 为 0.555,

$\Delta A_{\text{测}} = 0.599 - 0.555 = 0.044$ 。对照孔初始吸光度值 A_1 为 0.425,反应 40 min 后测得吸光度值 A_2 为 0.421, $\Delta A_{\text{对}} = 0.425 - 0.421 = 0.004$ 。计算结果为:

$$\begin{aligned} \text{角鲨烯合成酶活力(U/kg wet weight)} &= (0.044 - 0.004) \div (6.22 \times 0.5) \times (110 \div 10) \div (0.1 \\ &\div 0.9) \div 40 \times 1000 = 31.83 \text{ U/kg wet weight} \end{aligned}$$

按说明书操作,测定人血浆(加样量10 μL)、大鼠血浆(加样量10 μL)、小鼠肝组织(10%,加样量10 μL)、小鼠肾组织(10%,加样量10 μL)中得角鲨烯合成酶活力(如下图):



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

