

(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-K906-M

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 酶标仪(440 - 460 nm)

## Elabscience®琥珀酰辅酶 A 合成酶 (SCS)

### 比色法测试盒

## Succinyl-CoA Synthetase (SCS) Activity 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](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址: [www.elabscience.cn](http://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组织、细胞样本中琥珀酰辅酶 A 合成酶 (SCS) 的活力。

## 检测原理

琥珀酰辅酶 A 合成酶(Succinyl-CoA Synthetase, SCS)是柠檬酸循环中的关键酶,也是卟啉、血红素和酮体生物合成的重要代谢酶。SCS 将琥珀酰辅酶 A 转化为辅酶 A。辅酶 A 在酶催化作用下使显色剂显色,在 450 nm 处有最大吸光度,通过检测吸光度可以确定样本中 SCS 的酶活。

本试剂盒检测组织或细胞样本时,需测定总蛋白浓度,推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

## 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)	缓冲液 (Buffer Solution)	12 mL × 1 瓶	24 mL × 1 瓶	-20°C 避光 保存 3 个月
试剂二 (Reagent 2)	辅因子 (Co-factor)	2.5 mL × 1 瓶	5 mL × 1 瓶	-20°C 避光 保存 3 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 (Substrate)	0.8 mL × 1 支	1.6 mL × 1 支	-20°C 避光 保存 3 个月
试剂四 (Reagent 4)	酶溶液 (Enzyme Solution)	0.5 mL × 1 支	1 mL × 1 支	-20°C 避光 保存 3 个月
试剂五 (Reagent 5)	促进剂 (Accelerant)	0.5 mL × 1 支	1 mL × 1 支	-20°C 避光 保存 3 个月
试剂六 (Reagent 6)	显色剂 (Chromogenic Agent)	1.5 mL × 1 支	1.5 mL × 2 支	-20°C 避光 保存 3 个月
试剂七 (Reagent 7)	标准品 (Standard)	粉剂 × 1 支	粉剂 × 2 支	-20°C 避光 保存 3 个月
	96 孔酶标板	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，不同试剂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（波长 440 - 460 nm，最佳检测波长为 450 nm）、涡旋混匀仪

试剂：PBS (0.01 M, pH 7.4)

## 试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 反应工作液的配制：

按照试剂一：试剂二：试剂三：试剂四：试剂五 = 26:7:2:1:1 的体积比混匀，避光置于冰上备用，配好的工作液在一天内使用有效。

③ 1 mmol/L 标准品的配制：

取一支试剂七加入 1 mL 双蒸水溶解，避光置于冰上待用，一天内使用有效。

④ 不同浓度标准品的稀释

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度 (mmol/L)	0	0.1	0.2	0.25	0.3	0.35	0.4	0.5
1 mmol/L 标准品 ( $\mu$ L)	0	20	40	50	60	70	80	100
双蒸水 ( $\mu$ L)	200	180	160	150	140	130	120	100

## 样本准备

### ① 样本处理

组织样本：组织样本匀浆介质为 PBS (0.01 M, pH 7.4)，取 0.1g 组织样本加 0.9 mL 的 PBS，匀浆，在 4℃ 下，10000 ×g 离心 10 min 后取上清置于冰上待测，留取部分上清液进行蛋白浓度测定。

细胞样本：取  $1 \times 10^6$  个细胞离心后弃上清，每次加入 200  $\mu$ L PBS (0.01 M, pH 7.4)，清洗三次。清洗完成后再加入 200  $\mu$ L PBS (0.01 M, pH 7.4) 匀浆处理，10000 ×g 离心 10 min 后取上清置于冰上待测，留取部分上清液进行蛋白浓度测定。

### 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：0.09-20.72 U/L，请参看下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%大鼠心脏组织匀浆	不稀释	$1 \times 10^6$ 个 4T1 细胞	不稀释
10%大鼠肝组织匀浆	不稀释	$1 \times 10^6$ 个 Molt-4 细胞	不稀释
10%大鼠肾组织匀浆	不稀释	$1 \times 10^6$ 个 Jurkat 细胞	不稀释
10%小鼠脑组织匀浆	不稀释		

注：样本稀释液为 PBS (0.01 M, pH 7.4)。

## 实验关键点

待测样本需要放置在冰盒上操作，样本处理后放置时间不宜过长，宜在 4 个小时内使用。

## 操作步骤

- ① 标准孔：取 20  $\mu\text{L}$  不同浓度的标准品加入酶标板对应的标准孔中。  
测定孔：取 20  $\mu\text{L}$  待测样本加入到各测定孔中。
- ② 向步骤①中各标准孔中加入 185  $\mu\text{L}$  的试剂一；各测定孔中加入 185  $\mu\text{L}$  的反应工作液；
- ③ 向步骤②各孔中加入 20  $\mu\text{L}$  的试剂六。
- ④ 振板 3 s, 酶标仪 450 nm 处, 测定各孔 OD 值为  $A_1$ 。室温孵育 20 min, 酶标仪 450 nm 处, 测定各孔 OD 值为  $A_2$ ,  $\Delta A = A_2 - A_1$ 。标准曲线使用  $A_2$  值计算。

## 操作表

	标准孔	测定孔
待测样本 ( $\mu\text{L}$ )	--	20
不同浓度的标准品 ( $\mu\text{L}$ )	20	--
试剂一 ( $\mu\text{L}$ )	185	--
反应工作液 ( $\mu\text{L}$ )	--	185
试剂六 ( $\mu\text{L}$ )	20	20
振板 3 s, 酶标板于 450 nm 处测定 OD 值为 $A_1$ 。室温孵育 20 min, 于 450 nm 处测定各孔 OD 值为 $A_2$ , $\Delta A = A_2 - A_1$ 。标准曲线使用 $A_2$ 值计算。		

本试剂盒检测组织或细胞样本时, 需测定总蛋白浓度, 推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

## 结果计算

标准曲线:  $y = ax + b$

组织或细胞样本中 SCS 活力计算公式:

定义: 25 ℃ 条件下, 每克组织或细胞样本每分钟催化底物的过程生成 1  $\mu\text{mol}$  产物的所需的酶量为 1 个酶活力单位。

$$\text{SCS 活力 (U/gprot)} = (\Delta A_{450} - b) \div a \div T \times 1000 \div C_{\text{pr}} \times f$$

注解:

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值 (标准品浓度为 0 时的 OD 值), 标准曲线使用  $A_2$  值计算

x: 标准品的浓度

a: 标准曲线的斜率

b: 标准曲线的截距

$\Delta A_{450}$ :  $\Delta A = A_2 - A_1$

T: 样本在 25 ℃ 条件下孵育反应的时间 (20 min)

1000: 1 mmol/L = 1000  $\mu\text{mol/L}$

f: 样本检测前稀释的倍数

$C_{\text{pr}}$ : 待测样本的蛋白浓度, gprot/L

## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

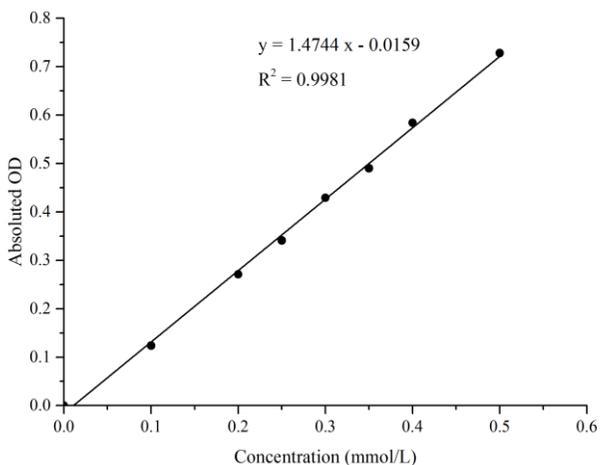
检测范围	0.09-20.72 U/L	批间差	4.9-10.3 %
灵敏度	0.09 U/L	批内差	2.5-8.0 %
稀释回收率	95-105 %		

### 2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量为20  $\mu$ L, 按照操作步骤进行实验, OD值如下表所示:

标准品浓度 (mmol/L)	0	0.1	0.2	0.25	0.3	0.35	0.4	0.5
OD 值	0.062	0.184	0.337	0.407	0.488	0.551	0.641	0.793
	0.059	0.185	0.327	0.396	0.492	0.551	0.649	0.784
平均 OD 值	0.060	0.184	0.332	0.401	0.490	0.551	0.645	0.788
绝对 OD 值	0	0.124	0.271	0.341	0.429	0.490	0.584	0.728

②绘制标准曲线, 如下图所示:



## 附录2 实例分析

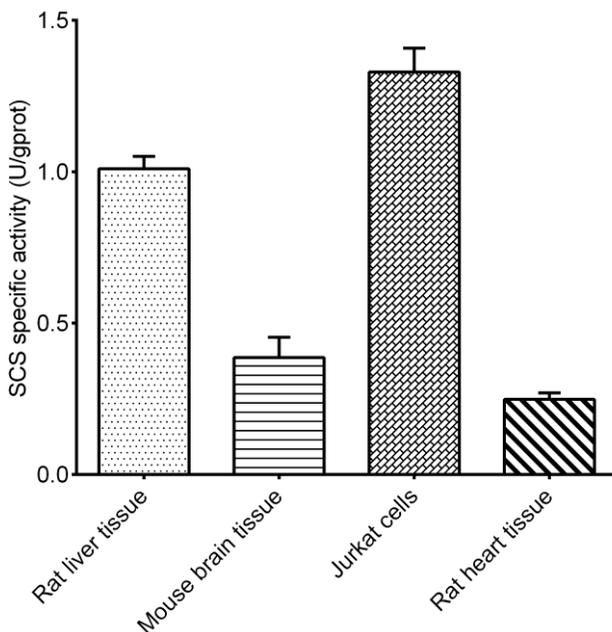
例如检测大鼠肝脏组织(数据仅供参考):

取10%大鼠肝组织上清液20  $\mu\text{L}$ , 按操作表操作, 结果如下:

标准曲线:  $y = 1.4744x - 0.0159$ , 测定孔的 $A_1$ 值为0.473; 室温孵育20 min后, 测定孔的 $A_2$ 值为0.650,  $\Delta A_{450} = A_2 - A_1 = 0.650 - 0.473 = 0.177$ 。测定的10%大鼠肝组织匀浆的蛋白浓度为6.46 gprot/L, 计算结果为:

$$\text{SCS 活性(U/gprot)} = (0.177 + 0.0159) \div 1.4744 \div 20 \times 1000 \div 6.46 = 1.012 \text{ U/gprot}$$

按说明书操作, 测定大鼠肝组织(10%组织匀浆蛋白浓度6.46 gprot/L, 加样量20  $\mu\text{L}$ )、小鼠脑组织(10%组织匀浆蛋白浓度3.19 gprot/L, 加样量20  $\mu\text{L}$ )、Jurkat细胞( $1 \times 10^6$ 个细胞匀浆蛋白浓度0.60 gprot/L, 加样量20  $\mu\text{L}$ )和大鼠心脏组织(10%组织匀浆蛋白浓度6.81 gprot/L, 加样量20  $\mu\text{L}$ )中SCS活力(如下图):



### 附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
样本测不出来值	样本放置时间过长	重新处理样本，进行测定

#### 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。





