（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-K841-M

产品规格：96T(40 samples)

检测仪器：酶标仪(405-415 nm)

Elabscience®S-腺苷高半胱氨酸水解酶（SAHH）比色法测试盒

S-Adenosyl-Homocysteine Hydrolase (SAHH) 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动物组织和细胞样本中的 S-腺苷高半胱氨酸水解酶（SAHH）的活力。

检测原理

在哺乳动物细胞内，S-腺苷高半胱氨酸水解酶（SAHH）是唯一参与 S-腺苷高半胱氨酸（SAH）水解生成高半胱氨酸（Hcy）的一种水解酶，SAHH 活性过高会水解 SAH 生成过多的 Hcy 从而引起阿尔茨海默病、高半胱氨酸血症、冠心病等老年性疾病，抑制 SAHH 活性可以有效的缓解 SAH 的水解。

本试剂盒的检测原理：底物被 SAHH 水解，其产物在常温条件下与显色剂反应转化成黄色的有色产物，其在 410 nm 处有最大的吸收峰，检测 410 nm 处吸光度的变化值可计算出 SAHH 的活力。

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法。(货号：E-BC-K318-M)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	25 mL × 1 瓶	-20℃避光保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	0.15 mL × 1 支	-20℃避光保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	辅因子 (Co-factor)	1.8 mL × 1 支	-20℃避光保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 (Chromogenic Agent)	0.3 mL × 1 支	-20℃避光保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	10 mmol/L 标准品溶液 (10 mmol/L Standard Solution)	0.8 mL × 1 支	-20℃避光保存 6 个月
	酶标板	96 孔×1 块	无要求
	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(405-415 nm，最佳检测波长 410 nm)、恒温箱(37ºC)

试剂：生理盐水（0.9% NaCl）

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温(25°C)。

② 试剂二工作液的配制：

按照试剂二：试剂一 ＝1：8的体积比稀释，按需配制，置于冰上避光待用，配制好的试剂二工作液-20°C条件下可保存3天。

③ 试剂三工作液的配制：

按照试剂三：试剂一 ＝1：4的体积比稀释，按需配制，置于冰上避光待用，配制好的试剂三工作液-20°C条件下可保存3天。

④ 试剂四工作液的配制：

按照试剂四：试剂一 ＝1 : 9 的体积比稀释，按需配制，避光置于冰上备用，配制好的试剂四工作液在-20°C 条件下可保存 3 天。

⑤ 1 mmol/L 标准品的配制：

按照试剂五：试剂一 ＝1 : 9 的体积比稀释，按需配制，避光置于冰上备用，配制好后的 1 mmol/L 标准品在-20°C 条件下可保存 3 天。

⑥ 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**	**0.3**	**0.5**	**0.7**	**0.8**	**0.9**	**1**
1 mmol/L 标准品（μL）	0	20	60	100	140	160	180	200
试剂一（μL）	200	180	140	100	60	40	20	0

样本准备

① 样本处理

组织样本：按照组织样本质量(g)：生理盐水(0.9% NaCl)体积(mL)=1:9的比例匀浆(如0.1 g组织样本，加入0.9 mL生理盐水(0.9% NaCl))。4°C，10000 × g，离心10 min，取上清置于冰盒上待测，留取部分上清进行蛋白浓度测定，制备好的组织匀浆上清在4 h内检测为宜。

细胞样本：取1×10^6个细胞加入200 μL的生理盐水（0.9% NaCl）匀浆，4°C，10000 × g，离心10 min，取上清置于冰盒上待测，留取部分上清进行蛋白浓度测定，制备好的细胞匀浆上清在4 h内检测为宜。

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：1.34-37.14 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%小鼠肝组织	不稀释	10%小鼠肾组织	不稀释
10%小鼠脑组织	不稀释	10%小鼠心脏组织	不稀释
10%小鼠肺组织	不稀释	10%小鼠腿肌肉组织	不稀释
10%小鼠脾脏组织	不稀释	1×10^6 293T 细胞	不稀释
1×10^6 Jurkat 细胞	不稀释	1×10^6 Molt-4 细胞	不稀释
1×10^6 Hela 细胞	不稀释	1×10^6 HL-60 细胞	不稀释

注：稀释液为生理盐水（0.9% NaCl）

操作步骤

① 标准孔：取 20 μL 不同浓度标准品加入相应的标准孔中。

测定孔：取 20 μL 待测样本加入相应的测定孔中。

对照孔：取 20 μL 待测样本加入相应的对照孔中。

② 向步骤①中的标准孔中加入 120 μL 的试剂一。

向步骤①中的对照孔中加入 20 μL 试剂一。

向步骤①中的测定孔加入 20 μL 试剂二工作液。

③ 向步骤②中的测定和对照孔中加入 100 μL 的试剂三工作液。

④ 向步骤③各孔中加入 20 μL 的试剂四工作液。

⑤ 振板 5 s，37°C 孵育 20 min。酶标仪于 410 nm 波长下检测各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	测定孔	对照孔
不同浓度标准品(μL)	20	--	--
待测样本(μL)	--	20	20
试剂一(μL)	120	--	20
试剂二工作液(μL)	--	20	--
试剂三工作液(μL)	--	100	100
试剂四工作液(μL)	20	20	20
振板 5 s，37°C 孵育 20 min。酶标仪于 410 nm 波长下检测各孔 OD 值。			

本试剂盒检测样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法。(货号：E-BC-K318-M)。

结果计算

标准曲线：y = ax + b

组织和细胞样本中 S-腺苷高半胱氨酸水解酶(SAHH)活力计算公式：

定义：37°C 条件下，每克组织或细胞蛋白每分钟催化底物生成 1 μmol Hcy 的酶活大小为 1 个酶活力单位。

$$\text{SAHH 活力(U/gprot)} = (\Delta A_{410} - b) \div a \div T \times 1000 \div C_{pr} \times f$$

注解：

y：标准品 OD 值-空白 OD 值（标准品浓度为 0 时的 OD 值）

x：标准品的浓度

a：标准曲线的斜率

b：标准曲线的截距

ΔA_{410}：测定 OD 值-对照 OD 值（$\Delta A_{410} = A_{测定} - A_{对照}$）

T：样本在 37°C 条件下孵育反应的时间，20 min

1000：1 mmol/L = 1000 μmol/L

C_{pr}：待测样本的蛋白浓度，gprot/L

f：样本检测前稀释的倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

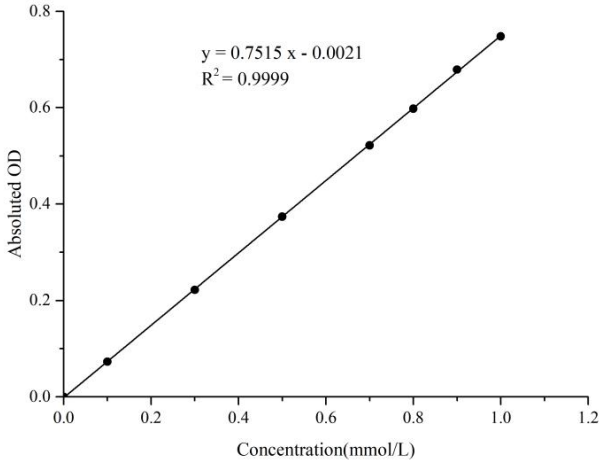
检测范围	1.34-37.14 U/L	批间差	3.7-7.8%
灵敏度	1.34 U/L	批内差	1.8-3.4%
稀释回收率	98-100%		

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 μL，按照操作表进行操作，记录OD值，结果如下：

标准品浓度（mmol/L）	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.8	0.9	1.0
OD 值	0.080	0.154	0.303	0.456	0.606	0.683	0.762	0.829
	0.081	0.152	0.301	0.452	0.599	0.674	0.757	0.828
平均 OD 值	0.081	0.153	0.302	0.454	0.603	0.679	0.760	0.829
绝对 OD 值	0	0.073	0.221	0.373	0.522	0.598	0.679	0.748

② 绘制标准曲线，如下图所示：



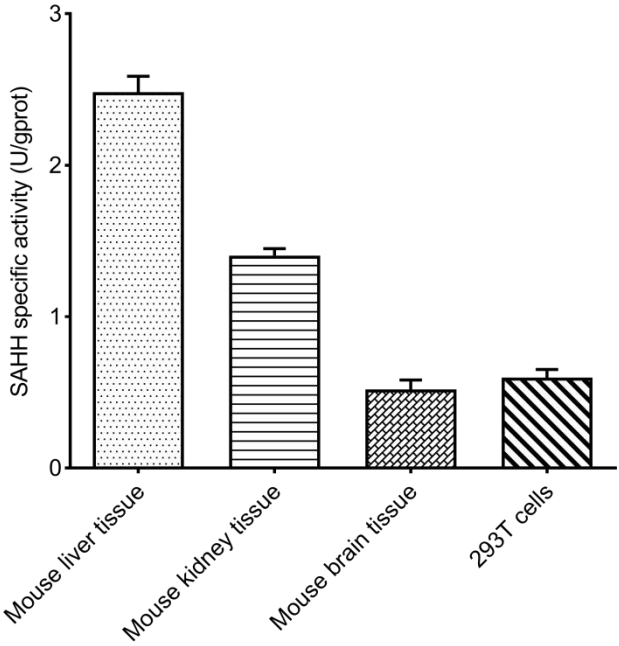
附录2 实例分析

例如小鼠肾组织(数据仅供参考)：

取20 μL 10%小鼠肾组织匀浆的上清液加入到酶标板孔中，按操作表操作，结果如下：标准曲线为y = 0.7515 x - 0.0021；测定孔OD值为0.963，对照孔OD值为0.798； $\Delta A_{410} = A_{测定} - A_{对照} = 0.963 - 0.798 = 0.165$，10%小鼠肾组织匀浆蛋白浓度为7.82 gprot/L，计算结果为：

$$\Delta\ \text{SAHH活力(U/gprot)} = (0.165 + 0.0021) \div 0.7515 \div 20 \times 1000 \div 7.82 = 1.42\ \text{U/gprot}$$

按说明书操作，测定小鼠肝组织(10%组织匀浆蛋白浓度为11.82 gprot/L，加样量20 μL)、小鼠肾组织(10%组织匀浆蛋白浓度为7.82 gprot/L，加样量20 μL)、小鼠脑组织(10%组织匀浆蛋白浓度为3.73 gprot/L，加样量20 μL)、293T细胞(1×10^6个细胞匀浆蛋白浓度为0.55 gprot/L，加样量20 μL) SAHH酶活(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。