（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!）

**产品货号：GBQ279**

**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
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，也是叶啉、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 GBQ162)进行测定。

## 提供试剂和物品

| 编号 | 名称 | 规格 1<br>(Size 1)(48 T) | 规格 2<br>(Size 2)(96 T) | 保存方式<br>(Storage) |
|---|---|---|---|---|
| 试剂一<br>(Reagent 1) | 缓冲液<br>(Buffer Solution) | 12 mL × 1 瓶 | 24 mL × 1 瓶 | -20°C 避光保存 3 个月 |
| 试剂二<br>(Reagent 2) | 辅因子<br>(Co-factor) | 2.5 mL × 1 瓶 | 5 mL × 1 瓶 | -20°C 避光保存 3 个月 |
| 试剂三<br>(Reagent 3) | 底物<br>(Substrate) | 0.8 mL × 1 支 | 1.6 mL × 1 支 | -20°C 避光保存 3 个月 |
| 试剂四<br>(Reagent 4) | 酶溶液<br>(Enzyme Solution) | 0.5 mL × 1 支 | 1 mL × 1 支 | -20°C 避光保存 3 个月 |
| 试剂五<br>(Reagent 5) | 促进剂<br>(Accelerant) | 0.5 mL × 1 支 | 1 mL × 1 支 | -20°C 避光保存 3 个月 |
| 试剂六<br>(Reagent 6) | 显色剂<br>(Chromogenic Agent) | 1.5 mL × 1 支 | 1.5 mL × 2 支 | -20°C 避光保存 3 个月 |
| 试剂七<br>(Reagent 7) | 标准品<br>(Standard) | 粉剂 × 1 支 | 粉剂 × 2 支 | -20°C 避光保存 3 个月 |
| | 96 孔酶标板 | 48 孔×1 块 | 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（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（μL）** | 0 | 20 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 100 |
| **双蒸水（μL）** | 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 1×10^6 个细胞离心后弃上清，每次加入 200 μL PBS (0.01 M, pH 7.4)，清洗三次。清洗完成后再加入 200 μL 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，请参考下表稀释(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 | 1×10^6 个 4T1 细胞 | 不稀释 |
| 10%大鼠肝组织匀浆 | 不稀释 | 1×10^6 个 Molt-4 细胞 | 不稀释 |
| 10%大鼠肾组织匀浆 | 不稀释 | 1×10^6 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 μL 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 μL 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 μL 的试剂一;各测定孔中加入 185 μL 的反应工作液;

③ 向步骤②各孔中加入 20 μL 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 $A_2$，$\triangle A = A_2 - A_1$。标准曲线使用 $A_2$ 值计算。

## 操作表

| | 标准孔 | 测定孔 |
|---|---|---|
| 待测样本（μL） | -- | 20 |
| 不同浓度的标准品（μL） | 20 | -- |
| 试剂一（μL） | 185 | -- |
| 反应工作液（μL） | -- | 185 |
| 试剂六（uL） | 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 $A_2$，$\triangle A = A_2 - A_1$。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 GBQ162)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°C 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 μmol 产物的所需的酶量为 1 个酶活力单位。

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

**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

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

T：样本在 25°C 条件下孵育反应的时间（20 min）

1000：1 mmol/L = 1000 μmol/L

f：样本检测前稀释的倍数

$C_{pr}$：待测样本的蛋白浓度，gprot/L

# 附录1 关键数据

## 1. 技术参数

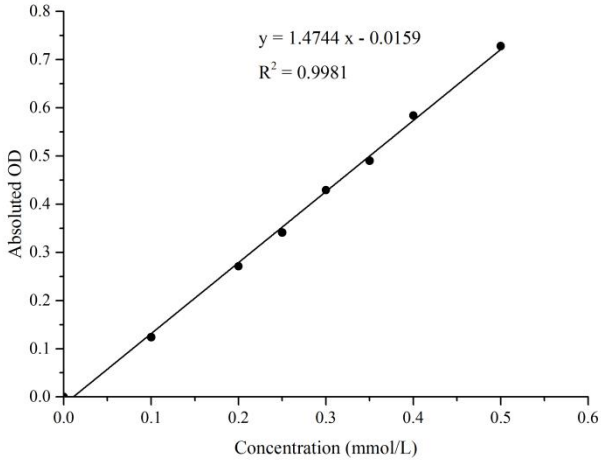
| 检测范围 | 0.09-20.72 U/L | 批间差 | 4.9-10.3 % |
|---|---|---|---|
| 灵敏度 | 0.09 U/L | 批内差 | 2.5-8.0 % |
| 稀释回收率 | 95-105 % | | |

## 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 μL，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

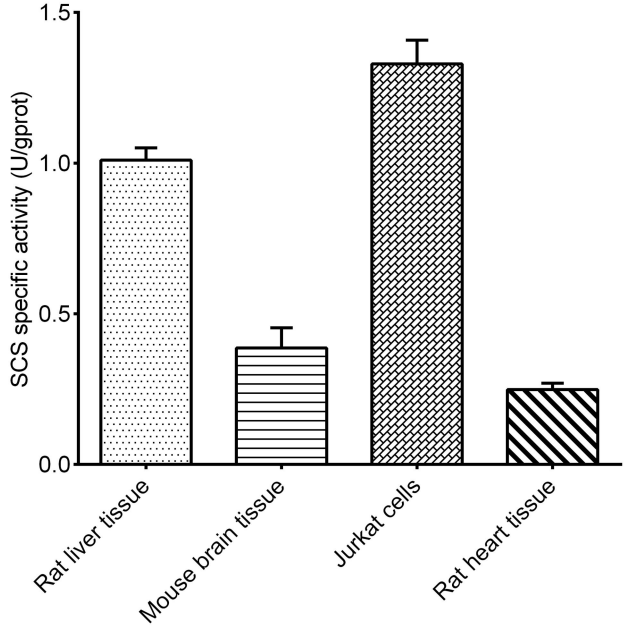
**例如检测大鼠肝脏组织(数据仅供参考)：**

取10%大鼠肝组织上清液20 μL，按操作表操作，结果如下：

标准曲线：y = 1.4744 x - 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，$\triangle A_{450} = A_2 - A_1 = 0.650 - 0.473 = 0.177$。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：

SCS 活性(U/gprot) = (0.177 + 0.0159) ÷ 1.4744 ÷ 20 × 1000 ÷ 6.46 = 1.012 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 μL）小鼠脑组织（10%组织匀浆蛋白浓度3.19 gprot/L，加样量20 μL）、Jurkat细胞（1×10^6个细胞匀浆蛋白浓度0.60 gprot/L，加样量20 μL）和大鼠心脏组织（10%组织匀浆蛋白浓度6.81 gprot/L，加样量20 μL）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。