

琥珀酸脱氢钠 (SDH) 活性检测试剂盒 (可见分光光度法)

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

产品货号：BA1164

产品规格：50管/48样

产品说明：

SDH (EC1.3.5.1) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中。SDH是线粒体的一种标志酶，位于线粒体内膜上的一种膜结合酶，是连接呼吸电子传递和氧化磷酸化的枢纽之一。此外，为多种原核细胞产能的呼吸链提供电子。

SDH催化琥珀酸脱氢生成延胡索酸，脱下的氢通过吩嗪二甲酯硫酸 (PMS) 传递还原2,6-二氯酚靛酚 (DCPIP)，并且在600nm处具有特征吸收峰，通过600nm吸光度的变化，测定2, 6-DPIP的还原速度，代表SDH酶活性。

产品内容：

- 试剂一：液体60mL×1瓶，-20℃保存；
- 试剂二：液体0.6mL×1瓶，-20℃保存；
- 试剂三：液体5mL×1瓶，4℃保存；
- 试剂四：粉剂×1瓶，4℃保存；临用前加入到试剂三中溶解待用；
- 试剂五：粉剂×1瓶，4℃保存；临用前加入4mL双蒸水，用不完的试剂仍4℃保存；
- 试剂六：粉剂×1瓶，-20℃保存；临用前加入3.333mL双蒸水，用不完的试剂4℃保存。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、SDH的提取

准确称取0.1g组织或收集500万细胞，加入1mL试剂一和10uL试剂二，用冰浴匀浆器或研钵匀浆充分研磨，4℃11000g离心10min，取上清，置冰上待测。

二、测定步骤和加样表

- 1、分光光度计预热30min以上，调节波长至600nm，蒸馏水调零。
- 2、样本测定

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
试剂三	60	60
试剂五	60	60
蒸馏水	800	800
37℃(哺乳动物)或25℃ (其它物种) 保温10min左右		
样本	30	
蒸馏水		30
试剂六	30	30



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

依次加各试剂到1mL比色皿中，在加入试剂六的同时开始计时；在600nm波长下记录20秒时的初始吸光度A1，比色后迅速将比色皿连同反应液一起放入37℃(哺乳动物)或25℃(其它物种)水浴中，准确反应1分钟；迅速取出比色皿并擦干，600nm下比色，记录1分20秒时的吸光度A2，计算 $\Delta A = A1 - A2$ ，得到 ΔA 测定， ΔA 空白。

三、SDH活性的计算

用1mL比色皿测定的计算公式如下

(1) 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟消耗1nmol2,6-二氯酚靛酚定义为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned} \text{SDH活性 (U/mgprot)} &= [(\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{反总} \times 10^9] \div (C \text{pr} \times V \text{样}) \div T \\ &= 1555.556 \times (\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div C \text{pr} \end{aligned}$$

(2) 按样本鲜重计算

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟消耗1nmol2,6-二氯酚靛酚定义为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned} \text{SDH活性 (U/g鲜重)} &= [(\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{反总} \times 10^9] \div (V \text{样} \div V \text{样总} \times W) \div T \\ &= 1571.111 \times (\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div W \end{aligned}$$

(3) 按细菌或细胞密度计算单位的定义：每1万个细菌或细胞在反应体系中每分钟消耗1nmol2,6-二氯酚靛酚定义为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned} \text{SDH活性 (U/10}^4 \text{cell)} &= [(\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{反总} \times 10^9] \div (V \text{样} \div V \text{样总} \times 500) \div T \\ &= 3.142 \times (\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \end{aligned}$$

V反总：反应体系总体积， $0.98 \times 10^{-3} \text{L}$ ；

ϵ ：2,6-二氯吲哚酚摩尔消光系数， $21 \times 10^3 \text{L/mol/cm}$ ；

d：比色皿光径，1cm；

V样：加入样本体积，0.03mL；

V样总：加入试剂一和试剂二体积，1.01mL；

T：反应时间，1min；

Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；

W：样品质量，g；

500：细菌或细胞总数，500万。

注意事项：

- 1、测定过程中所有试剂和样本在冰上放置，以免变性失活。
- 2、若 ΔA 大于0.5，需将酶液用酶提取液稀释，使 ΔA 小于0.5，可提高检测灵敏度。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com