

琥珀酸脱氢酶（SDH）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1165

产品规格：100管/96样

产品简介：

SDH（EC 1.3.5.1）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-DCPIP的还原速度，代表SDH酶活性。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体110mL×1瓶	-20℃
试剂二	液体1mL×1支	-20℃
试剂三	液体18mL×1瓶	2-8℃
试剂四	粉剂×1支	2-8℃
试剂五	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂六	粉剂×1瓶	-20℃

溶液的配制：

1. 试剂四：临用前加入到试剂三中溶解待用；
2. 试剂五：临用前加入4mL双蒸水，用不完的试剂仍4℃保存；
3. 试剂六：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/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

准确称取0.1g组织或收集500万细胞，加入1mL试剂一和10μL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

分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至600nm，蒸馏水调零。

样本测定。

试剂名称（μL）	测定管	空白管
试剂三	168	168
试剂五	12	12
37℃(哺乳动物)或25℃（其它物种）保温10min左右		
样本	10	
蒸馏水		10
试剂六	10	10

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和1分20秒时的吸光度A2，计算



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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

$\Delta A = A_1 - A_2$, 得到 ΔA 测定、 ΔA 空白。

三、SDH活性的计算

a. 用微量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1nmol 2,6-二氯酚靛酚定义为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned} \text{SDH活性 (U/mg prot)} &= [(\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{反总} \times 10^9] \div (Cpr \times V \text{样}) \div T \\ &= 952.381 \times (\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div Cpr \end{aligned}$$

(2) 按样本质量计算

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟消耗1nmol 2,6-二氯酚靛酚定义为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned} \text{SDH活性 (U/g质量)} &= [(\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{反总} \times 10^9] \div (V \text{样} \div V \text{样总} \times W) \div T \\ &= 961.905 \times (\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div W \end{aligned}$$

(3) 按细菌或细胞数量计算

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1nmol 2,6-二氯酚靛酚定义为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned} \text{SDH活性 (U/10}^4 \text{cell)} &= [(\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{反总} \times 10^9] \div (V \text{样} \div V \text{样总} \times 500) \div T \\ &= 1.924 \times (\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \end{aligned}$$

V反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：2,6-二氯吡啶酚摩尔消光系数， 2.1×10^4 L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；V样：加入样本体积，0.01mL；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：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500万； 10^9 ：单位换算系数， $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ 。

b. 用96孔板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1nmol 2,6-二氯酚靛酚定义为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned} \text{SDH活性 (U/mg prot)} &= [(\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{反总} \times 10^9] \div (Cpr \times V \text{样}) \div T \\ &= 1587.302 \times (\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div Cpr \end{aligned}$$

(2) 按样本质量计算

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟消耗1nmol 2,6-二氯酚靛酚定义为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned} \text{SDH活性 (U/g质量)} &= [(\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{反总} \times 10^9] \div (V \text{样} \div V \text{样总} \times W) \div T \\ &= 1603.175 \times (\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div W \end{aligned}$$

(3) 按细菌或细胞数量计算

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1nmol 2,6-二氯酚靛酚定义为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned} \text{SDH活性 (U/10}^4 \text{cell)} &= [(\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{反总} \times 10^9] \div (V \text{样} \div V \text{样总} \times 500) \div T \\ &= 3.206 \times (\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \end{aligned}$$

V反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：2,6-二氯吡啶酚摩尔消光系数， 2.1×10^4 L/mol/cm；d：96孔板光径，0.6cm；V样：加入样本体积，0.01mL；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：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500万； 10^9 ：单位换算系数， $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ 。

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（比色皿）/0.3（96孔板），需将酶液用酶提取液稀释，使 ΔA 小于0.5/0.3，可提高检测灵敏度。
3. 由于提取液中含有一定浓度的蛋白（约1mg/mL），所以在测定样品蛋白浓度时需要减去提取液本身的蛋白含量。



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