

琥珀酸脱氢酶(SDH)活性检测试剂盒（可见分光光度法）

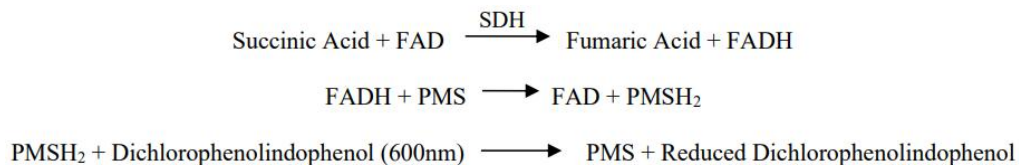
产品货号：BA2146

产品规格：50T/48S

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。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体60mL×1瓶	-20℃
试剂二	液体0.6mL×1支	-20℃
试剂三	液体50mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体3mL×1瓶	2-8℃
试剂五	液体3mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂二：为易挥发试剂，用完后尽快密封，-20℃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/细胞超声破碎仪、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）

1. 组织样本：称取约0.1g组织，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。
2. 细胞或者细菌样本：先收集500万细菌/细胞到离心管内，离心后弃上清；之后加入1mL试剂一和10μL试剂二，冰浴超声波破碎细菌（功率200W，超声3s，间隔7s，总时间5min）；然后11000g，4℃，离心10min，取上清置于冰上待测。

二、 测定步骤

1. 分光光度计预热30min以上，调节波长至600nm，蒸馏水调零。
2. 使用前根据样本量将试剂三置于37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）预热10min。
3. 样本测定（在1mL玻璃比色皿中加入下列试剂）：



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

试剂名称 (μL)	测定管	空白管
试剂三	850	850
试剂四	50	50
样本	50	-
蒸馏水	-	50
试剂五	50	50

充分混匀，立即测定 600nm 波长下 20s 时的初始吸光度 A1，然后迅速置于 37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）反应 5min，测定 5min20s 时的吸光度 A2，计算 $\Delta A = A1 - A2$ ，得到 ΔA 测定、 ΔA 空白。空白管只需测 1-2 次。

三、SDH 活性的计算

(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。

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

$$= 190.476 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div \text{Cpr}$$

(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。

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

$$= 192.381 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div W$$

(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。

$$\text{HK 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = [(\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{ 反总} \times 10^9] \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times N) \div T$$

$$= 192.381 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div N$$

V 反总：反应体系总体积， 1×10^{-3} L； ϵ ：2,6-二氯酚靛酚摩尔消光系数， 2.1×10^4 L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.05mL；V 样总：加入试剂一和试剂二体积，1.01mL；T：反应时间，5min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细菌或细胞总数，以 10^4 计； 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（除预热试剂）和样本在冰上放置，以免变性失活。
2. 若 ΔA 大于 0.6，需将酶液用蒸馏水稀释，使 ΔA 小于 0.6，可提高检测灵敏度。计算公式中乘以稀释倍数。
3. 由于试剂一中含有一定浓度的蛋白（约 1mg/mL），所以测定样本蛋白浓度时需要减去试剂一本身的蛋白含量（约 1mg/mL）。



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