

**琥珀酸脱氢酶 (SDH) 活性检测试剂盒 (分光光度计法)**  
(本试剂盒仅供科研使用)**产品包装**

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0207	琥珀酸脱氢酶 (SDH) 活性检测试剂盒	50 管/48 样

**产品内容**

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 100mL × 1 瓶	-20℃
试剂二	液体 20mL × 1 瓶	-20℃
试剂三	液体 1.5mL × 1 瓶	-20℃
试剂四	粉剂 × 1 瓶	-20℃
试剂五	粉剂 × 1 瓶	-20℃

**一、产品说明**

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-DPIP 的还原速度, 代表 SDH 酶活性。

**二、自备材料**

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、冰和蒸馏水。

**三、样品制备**

- 1、称取约 0.1g 组织或收集 500 万细胞, 加入 1mL 试剂一和 10 $\mu$ L 试剂三, 进行冰浴匀浆。
- 2、将匀浆液 4℃ 600g 离心 5min。
- 3、弃沉淀, 将上清液转移至另一离心管, 4℃ 11000g 离心 10min。
- 4、上清液即胞浆提取物, 可用于测定从线粒体泄漏的 SDH (此步可选做)。
- 5、向步骤 4 中的沉淀中加入 200 $\mu$ L 试剂二和 2 $\mu$ L 试剂三, 超声破碎 (冰浴, 功率 20% 或者 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次), 用于线粒体 SDH 酶活的测定。

**四、操作步骤**

**正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。**

- 1、分光光度计/酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 600nm, 蒸馏水调零。
- 2、在试剂四中加入 90mL 蒸馏水充分溶解, 置于 37℃ (哺乳动物) 或 25℃ (其它物种) 水浴 10min; 用不完的试剂分装后-20℃保存, 禁止反复冻融。
- 3、在试剂五中加入 5mL 蒸馏水, 充分溶解待用; 用不完的试剂分装后-20℃保存, 禁止反复冻融。

4、紫外分光光度计用蒸馏水调零后,依次加各试剂到 1 mL 玻璃比色皿中,在加入样本溶液后立即混匀,在 600 nm 波长下记录 20s 时的初始吸光度 A1 和 1min 20s 时的吸光度 A2,计算 $\Delta A=A1-A2$ 。

试剂名称 ( $\mu\text{L}$ )	加入量
试剂四	1.8mL
试剂五	100 $\mu\text{L}$
样本	100 $\mu\text{L}$

## 五、酶活的计算

1、按照样本蛋白浓度计算:

单位的定义: 每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol 2,6-二氯酚靛酚定义为一个酶活性单位。  
SDH 活性 (nmol/min/mg prot) =  $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T$ 。

2、按照样本鲜重计算:

单位的定义: 每 g 组织每分钟消耗 1 nmol 2,6-二氯酚靛酚定义为一个酶活性单位。  
SDH 活性 (nmol/min/g 鲜重) =  $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$ 。

3、按照细胞/细菌数量计算:

单位的定义: 每 1 万个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol 2,6-二氯酚靛酚定义为一个酶活性单位。

SDH 活性 (nmol/min/ $10^4$  ceLL) =  $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$ 。

$V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积,  $2 \times 10^{-3}$  L;  $\epsilon$ : 2,6-二氯吲哚酚摩尔消光系数,  $2.1 \times 10^4$  L / mol / cm;  
 $d$ : 比色皿光径, 1cm;  $V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.1 mL;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 0.202 mL;  
 $T$ : 反应时间, 1 min;  $Cpr$ : 细菌或细胞总数, 500 万。