

上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

货号：ZC-S0663

规格：50管/48样

琥珀酸脱氢酶（Succinate Dehydrogenase, SDH）试剂盒说明书

可见分光光度法

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	50mL×1瓶	-20℃保存	-
试剂二	10mL×1瓶	-20℃保存	-
试剂三	1mL×1支	-20℃保存	-
试剂四	液体5mL×1瓶	4℃保存	-
试剂五	粉剂×1支	4℃保存	临用前加入2mL蒸馏水，用不完的试剂仍4℃保存
试剂六	粉剂×1支	-20℃保存	临用前加入2mL蒸馏水，用不完的试剂4℃保存。

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。

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、1 mL玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本的前处理：

组织、细菌或细胞中胞浆蛋白与线粒体蛋白的分离：

- 1、称取约0.1g组织或收集500万细菌或细胞，加入1mL试剂一和10uL试剂三，用冰浴匀浆器或研钵匀浆。
- 2、将匀浆600g，4℃离心5min。
- 3、弃沉淀，将上清液移至另一离心管中，11000g，4℃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）。在步骤④的沉淀中加入200uL试剂二和2uL试剂三，超声波破碎（冰浴，功率20%或200W，超声3秒，间隔10秒，重复30次），用于线粒体SDH活性测定。

二、测定步骤和加样表

试剂名称 (μL)	测定管
试剂四	60
试剂五	30
蒸馏水	800
37°C (哺乳动物) 或 25°C (其它物种) 保温 10min 左右。	
样本	30
试剂六	30

用蒸馏水调零后，依次加各试剂到1 mL玻璃比色皿中，在加入试剂六的同时开始计时，混匀，在600 nm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 $\Delta A=A1-A2$ 。

三、SDH 活性的计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：每mg 组织蛋白每分钟消耗1 nmol 2,6-二氯酚靛酚定义为一个酶活性单位。

$$\text{SDH 活性 (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 1508 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算

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。

$$\text{SDH 活性 (U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 304.6 \times \Delta A \div W$$

(3) 按细菌或细胞密度计算

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

$$\text{SDH 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.609 \times \Delta A$$

V 反总：反应体系总体积， 9.5×10^{-4} L； ϵ ：2,6-二氯吲哚酚摩尔消光系数， 2.1×10^4 L / mol

/cm；d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.03 mL；V 样总：加入提取液体积，0.202 mL；

T：反应时间，1 min；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。