



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

琥珀酸脱氢酶(SDH)活性检测试剂盒(微量法)

货号: R41823

规格: 100T/96S

保质期: 6个月

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
试剂-A	100ml×1瓶	-20℃保存
试剂-B	20ml×1瓶	-20℃保存
试剂-C	1.5ml×1支	-20℃保存
试剂-D	粉剂×1支, 用时加入18ml蒸馏水充分溶解, 置于 37℃(哺乳动物)或25℃(其他物种)水浴 10min	2-8℃保存
试剂-E	粉剂×1支, 用时加入1ml蒸馏水充分溶解	-20℃保存

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

简介

意义: 琥珀酸脱氢酶 (Succinate Dehydrogenase, 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。

原理: 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。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、离心机、移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。



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-A 和 10ul 试剂-C, 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-B 和 2ul 试剂-C, 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。

测定步骤:

试剂名称	测定管(ul)
样本	10
试剂-E	10
试剂-D	180
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 $\Delta A=A1-A2$	

计算公式:

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 按照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。

$$\text{SDH 活性 (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T \\ = 952 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

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。

$$\text{SDH 活性 (U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = \\ 192 \times \Delta A \div W$$

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。

$$\text{SDH 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.385 \times \Delta A$$

注: $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 2×10^{-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; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.01 mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 0.202 mL; T : 反应时间, 1 min; C_{pr} : 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。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 按照蛋白浓度计算

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。

$$\text{SDH 活性 (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 1904 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

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。

$$\text{SDH 活性 (U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 384 \times \Delta A \div W$$

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。

$$\text{SDH 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.77 \times \Delta A$$

注: $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 2×10^{-4} L; ϵ : 2,6-二氯吲哚酚摩尔消光系数, 2.1×10^4 L / mol / cm; d : 96 孔板光径, 0.5cm; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.01 mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 0.202 mL; T : 反应时间, 1 min; C_{pr} : 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。