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 60mL ×1 瓶	-20℃
试剂二	液体 0.6mL ×1 瓶	-20℃
试剂三	液体 5mL ×1 瓶	4℃
试剂四	粉剂×1 瓶：临用前加入到试剂三中溶解待用。	4℃
试剂五	粉剂×1 瓶：临用前加入 4mL 双蒸水，用不完的试剂 4℃保存。	4℃
试剂六	粉剂×1 瓶：临用前加入 3.333mL 双蒸水，用不完的试剂 4℃保存。	4℃

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

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，11000 g 4 ℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

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、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 600nm，蒸馏水调零。

2、样本测定：

试剂名称（μL）	测定管	空白管
试剂三	60	60
试剂五	60	60
蒸馏水	800	800
37℃(哺乳动物)或 25℃（其它物种）保温 10min 左右。		
样本	30	

蒸馏水		30
试剂六	30	30
依次加各试剂到 1 mL 比色皿中，在加入试剂六的同时开始计时；在 600 nm 波长下记录 20 秒时的初始吸光度 A1，比色后迅速将比色皿连同反应液一起放入 37℃(哺乳动物)或 25℃(其它物种) 水浴中，准确反应 1 分钟；迅速取出比色皿并擦干，600 nm 下比色，记录 1 分 20 秒时的吸光度 A2， 计算ΔA=A1-A2，得到ΔA 测定， ΔA 空白。		

五、酶活的计算

1、按照样本蛋白浓度计算：

单位定义：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（U /mg prot）＝[（ΔA 测定-ΔA 空白）÷（ε×d）×V 反总×10^9]÷(Cpr×V 样) ÷T ＝1555.556×（ΔA 测定-ΔA 空白）÷Cpr。

2、按照样本鲜重计算：

单位定义：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（U/g 鲜重）＝[（ΔA 测定-ΔA 空白）÷（ε×d）×V 反总×10^9]÷(V 样÷V 样总×W) ÷T ＝1571.111×（ΔA 测定-ΔA 空白）÷W。

3、按照细胞/细菌数量计算：

单位定义：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（U /10^4 ceLL）＝[（ΔA 测定-ΔA 空白）÷(ε×d)×V 反总×10^9]÷(V 样÷V 样总×500) ÷T＝3.142×（ΔA 测定-ΔA 空白）。

V 反总：反应体系总体积，0.98×10^{-3} L；ε：2,6-二氯吲哚酚摩尔消光系数，21×10^3L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.03 mL；V 样总：加入试剂一和试剂二体积，1.01 mL； T：反应时间，1 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样品质量，g；500：细菌或细胞总数， 500 万。

六、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，需将酶液用酶提取液稀释，使ΔA 小于 0.5，可提高检测灵敏度。