

琥珀酸脱氢酶 (SDH) 活性检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1165

产品规格: 100管/96样

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容:

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体110mL×1瓶	-20℃
试剂二	液体1mL×1支	-20℃
试剂三	液体18mL×1瓶	2-8℃
试剂四	粉剂×1支	2-8℃
试剂五	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂六	粉剂×1瓶	-20℃

溶液的配制:

1. 试剂四: 临用前加入到试剂三中溶解待用;
2. 试剂五: 临用前加入4mL双蒸水, 用不完的试剂仍4℃保存;
3. 试剂六: 临用前加入3.333mL双蒸水, 用不完的试剂4℃保存。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、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)

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, 4℃11000g离心10min, 取上清, 置冰上待测。

二、测定步骤

分光光度计或酶标仪预热30min以上, 调节波长至600nm, 蒸馏水调零。

样本测定。

试剂名称 (μL)	测定管	空白管
试剂三	168	168
试剂五	12	12
37℃(哺乳动物)或25℃ (其它物种) 保温10min左右		
样本	10	
蒸馏水		10
试剂六	10	10



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

在加入试剂六的同时开始计时，在600nm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 $\Delta A=A1-A2$ ，得到 ΔA 测定、 ΔA 空白。

三、SDH活性的计算

a.用微量比色皿测定的计算公式如下

(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。

$$\text{SDH活性 (U/mg prot)} = [(\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{反总} \times 10^9] \div (\text{Cpr} \times V \text{样}) \div T \\ = 952.381 \times (\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div \text{Cpr}$$

(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。

$$\text{SDH活性 (U/g质量)} = [(\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{反总} \times 10^9] \div (V \text{样} \div V \text{样总} \times W) \div T \\ = 961.905 \times (\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div W$$

(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。

$$\text{SDH活性 (U/10}^4 \text{cell)} = [(\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{反总} \times 10^9] \div (V \text{样} \div V \text{样总} \times 500) \div T \\ = 1.924 \times (\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白})$$

V反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：2,6-二氯吡啶酚摩尔消光系数， 2.1×10^4 L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；V样：加入样本体积，0.01mL；V样总：加入试剂一和试剂二体积，1.01mL；T：反应时间，1min；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； 10^9 ：单位换算系数， $1\text{mol}=10^9\text{nmol}$ 。

b.用96孔板测定的计算公式如下

(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。

$$\text{SDH活性 (U/mg prot)} = [(\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{反总} \times 10^9] \div (\text{Cpr} \times V \text{样}) \div T \\ = 1587.302 \times (\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div \text{Cpr}$$

(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。

$$\text{SDH活性 (U/g质量)} = [(\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{反总} \times 10^9] \div (V \text{样} \div V \text{样总} \times W) \div T \\ = 1603.175 \times (\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div W$$

(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。

$$\text{SDH活性 (U/10}^4 \text{cell)} = [(\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{反总} \times 10^9] \div (V \text{样} \div V \text{样总} \times 500) \div T \\ = 3.206 \times (\Delta A \text{测定} - \Delta A \text{空白})$$

V反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：2,6-二氯吡啶酚摩尔消光系数， 2.1×10^4 L/mol/cm；d：96孔板光径，0.6cm；V样：加入样本体积，0.01mL；V样总：加入试剂一和试剂二体积，1.01mL；T：反应时间，1min；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； 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和样本在冰上放置，以免变性失活。
2. 若 ΔA 大于0.5（比色皿）/0.3（96孔板），需将酶液用酶提取液稀释，使 ΔA 小于0.5/0.3，可提高检测灵敏度。
3. 由于提取液中含有一定浓度的蛋白（约1mg/mL），所以在测定样品蛋白浓度时需要减去提取液本身的蛋白含量。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com