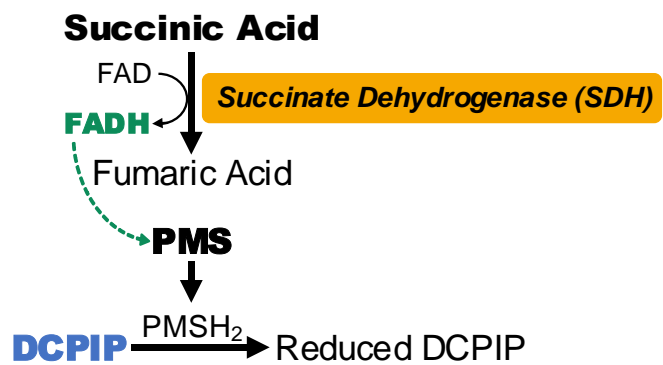




琥珀酸脱氢酶 (SDH) 活性检测试剂盒
Succinate Dehydrogenase (SDH) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



琥珀酸脱氢酶 (SDH) 活性检测试剂盒

Succinate Dehydrogenase (SDH) Activity Assay Kit

一、产品描述

琥珀酸脱氢酶是位于线粒体内膜上的一种多亚基膜结合酶，属于黄素酶类的细胞色素氧化酶，作为三羧酸循环和电子传递链的重要组成部分，能够将琥珀酸氧化为延胡索酸，并传递电子至泛醌，从而驱动 ATP 的生成，在生物体的能量代谢中扮演着核心角色，并且与多种疾病的发病机制密切相关。

琥珀酸脱氢酶能够催化琥珀酸脱氢生成延胡索酸，通过吩嗪二甲酯硫酸 (PMS) 递氢将 2,6-二氯靛酚 (DCPIP) 还原，2,6-二氯靛酚在 600 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光度下降速率即可表征琥珀酸脱氢酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液 A	液体 120 mL×1 瓶	-20°C 保存	-
提取液 B	液体 1.2 mL×1 支	-20°C 避光保存	易挥发组分，注意密封保存
试剂一	液体 40 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 3 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
试剂三	液体 3 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①组织：称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液 A 和 10 μ L 提取液 B，冰浴充分研磨至匀浆，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清液即为粗酶液，置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集 500 万细菌或细胞至离心管内，加入 1 mL 提取液 A 和 10 μ L 提取液 B，冰浴超声破碎细菌或细胞 (功率 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 5 min)，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清液即为粗酶液，置于冰上待测。

2.测定步骤

- ①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 600 nm。
- ②试验前将试剂一置于 37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）预热 10 min 以上。
- ③灭活酶液的制备：吸取 100 μL 粗酶液至离心管中，沸水浴处理 10 min（密封以防止水分散失），冷却至室温，充分混匀即为灭活酶液。
- ④在 96 孔板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)
粗酶液	10	-
灭活酶液	-	10
试剂一	170	170
试剂二	10	10
试剂三	10	10

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 20 s（总时间）时 600 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 对照；②37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）准确反应 300 s，测定 320 s（总时间）时 600 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 对照；③计算 ΔA 测定=A1 测定-A2 测定， ΔA 对照=A1 对照-A2 对照， $\Delta A = \Delta A$ 测定- ΔA 对照。注：每个样本均需设置一个对照组。

3.琥珀酸脱氢酶（SDH）活性计算

- ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol 2,6-DCPIP 定义为一个酶活力单位。

$$\text{SDH (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{380.95 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

- ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol 2,6-DCPIP 定义为一个酶活力单位。

$$\text{SDH (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{384.76 \times \Delta A}{W}$$

- ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol 2,6-DCPIP 定义为一个酶活力单位。

$$\text{SDH (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{384.76 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

注释: V样: 反应体系中加入粗酶液的体积, 0.01 mL; V样总: 粗酶液总体积, 1.01 mL; V反总: 反应体系总体积, 2×10^{-4} L; ϵ : 2,6-二氯酚酚摩尔消光系数, 2.1×10^4 L/mol/cm; d: 96孔板光径, 0.5 cm; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 细菌或细胞数量: 以万计; T: 酶促反应时间, 5 min。

四、注意事项

- ①测定过程中试剂二、试剂三和粗酶液均需置于冰上放置, 以免变性或失活;
- ②若 A1 测定大于 1.5 或 ΔA 大于 0.3, 建议将粗酶液使用蒸馏水适当稀释后再进行测定; 若 ΔA 小于 0.02, 建议适当延长酶促反应时间或增加上样量后再进行测定, 计算时相应修改;
- ③准确在 20 s 和 320 s 处完成吸光值测定, 以保证实验结果的准确性和重复性; 若同时测定多个样本时, 应使用多道移液器且分批进行测定, 以确保组间反应时间一致;
- ④提取液 A 中含有约 1 mg/mL 的蛋白, 测定粗酶液蛋白浓度时需减去提取液 A 自身的蛋白含量;
- ⑤沸水浴处理过程推荐使用螺纹盖离心管或冻存管, 以确保密封效果防止水分挥发;
- ⑥为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书 (以实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定, 过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

