

琥珀酸脱氢酶（SDH）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHC4-M48	琥珀酸脱氢酶（SDH）	48T	微量法
AMHC4-M96	检测试剂盒说明书	96T	

一、测定意义：

琥珀酸脱氢酶（EC1.3.99.1,SDH），位于线粒体内膜上，在三羧酸循环和电子传递链中起重要作用。琥珀酸脱氢酶（SDH）是三羧酸循环中一种重要的酶，测定细胞中有无琥珀酸脱氢酶活性，可以初步鉴定三羧酸循环途径是否存在。

二、测定原理：

琥珀酸脱氢酶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。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1瓶	液体110mL×1瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 3mL×1 支	液体 6mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 3mL×1 支	液体 6mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 3mL×1 支	液体 6mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 3mL×1 支	液体 6mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	2-8℃保存
试剂五母液配制： 每支粉剂加入1mL试剂一，充分溶解，混合均匀，现用现配。 试剂五配制： 临用前按照试剂五母液：水=1：99的比例，100倍稀释配制成试剂五溶液备用。			
工作液的配制： 现用现配，按试剂一：试剂二：试剂三：试剂四：试剂五=1:1:1:1:1的比例配制，用多少配多少。			

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量（g）:提取液(mL)为 1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞:按照细胞数量 10⁴ 个:提取液体积(mL)500~1000:1的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰

浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

测定步骤

- 1.酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 600nm，蒸馏水调零；
- 2.测定前将试剂恢复至常温；
- 3.操作表（在 96 孔板中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	空白管
样品（μL）	10	-
双蒸水（μL）	-	10
工作液（μL）	190	190
记录 600nm 处 20s 时吸光值 A1 和 5min20s 时的吸光值 A2，计算 $\Delta A = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ 。 $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ； $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。（空白管只做 1-2 管）		

五、琥珀酸脱氢酶（SDH）活性计算：

- 1、按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每分钟消耗 1nmol 2,6-二氯酚靛酚为一个酶活力单位。

计算公式： $SDH \text{ (nmol/min/g)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 317.2 \times \Delta A \div W$

- 2、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克蛋白每分钟消耗 1nmol 2,6-二氯酚靛酚为一个酶活力单位。

计算公式： $SDH \text{ (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 317.2 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

- 3、按细菌或细胞数量计算：

单位定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol 2,6-二氯酚靛酚为一个酶活力单位。

计算公式： $SDH \text{ (nmol/min/10}^4\text{cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 0.63 \times \Delta A$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，2×10⁻⁴ L； ϵ ：2,6-二氯酚靛酚摩尔消光系数，1.63×10⁴ L/mol/cm； d ：96 孔板光径，0.6cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本

体积, 0.01mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 5min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; 10^9 : 单位换算系数, $1\text{mol}=10^9\text{nmol}$; W: 样本质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。

六、注意事项:

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。

【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日