

## 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）检测试剂盒说明书	48T	微量法
AMHC4-M96		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	试剂装置(48T)	试剂装置(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
<b>试剂五母液配制：</b> 每支粉剂加入1mL试剂一，充分溶解，混合均匀，现用现配。 <b>试剂五配制：</b> 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。			
<b>工作液的配制：</b> 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0.1g组织，加入1mL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10<sup>4</sup>个:提取液体积(mL)500~1000:1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液），冰

浴超声波破碎细胞（功率300w, 超声3s, 间隔7s, 总时间3min），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 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。 $\Delta A_{\text{空白}} = A_{1\text{空白}} - A_{2\text{空白}}$ ； $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。（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1nmol2,6-二氯酚靛酚为一个酶活力单位。

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

2、按样本蛋白浓度计算：

**单位定义：**每毫克蛋白每分钟消耗1nmol2,6-二氯酚靛酚为一个酶活力单位。

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

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1nmol2,6-二氯酚靛酚为一个酶活力单位。

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

V<sub>反总</sub>: 反应体系总体积, 2×10<sup>-4</sup>L; ε: 2,6-二氯酚靛酚摩尔消光系数, 1.63×10<sup>4</sup>L/mol/cm; d: 96孔板光径, 0.6cm; V<sub>样</sub>: 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,

1mol=10<sup>9</sup>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