

## Succinate Dehydrogenase Activity Assay Kit

### 琥珀酸脱氢酶(SDH)活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1817B	琥珀酸脱氢酶(SDH)活性检测试剂盒 微板法	96T

#### 产品简介:

琥珀酸脱氢酶 (SDH, EC 1.3.5.1) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中。在真核生物中, 结合于线粒体内膜, 在原核生物中整合于细胞膜上, 是连接呼吸电子传递和氧化磷酸化的枢纽之一。

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 吸光度值的变化得出 SDH 酶活性大小。

#### 产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	120mL×1 瓶	-20°C保存	
试剂二	120mL×1 瓶	-20°C保存	
试剂三	0.5mL×1 支	-20°C保存	
试剂四	粉末×1 瓶	4°C保存	临用前甩几下使粉剂落入底部, 再加 20mL 蒸馏水溶解 (观察液体为蓝色)。
试剂五	粉末×4 支	-20°C避光保存	临用前甩几下使粉剂落入底部, 每支再加 0.4mL 蒸馏水溶解, 现配现用, 两天内用完。

#### 使用方法:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

##### 一、样本准备

1. 线粒体制备 (提示: 整个线粒体的提取过程须保持 4°C 低温环境):

- 称取约 0.1g 组织或收集 500 万细胞, 加入 1mL 试剂一, 用冰浴匀浆器或研钵匀浆, 转移至离心管后于 4°C×700g 离心 10min。弃沉淀, 上清液移至另一离心管中, 4°C×12000g 离心 10min。上清液即胞浆提取物, 可用于测定从线粒体泄漏的 SDH (此步可选做), 沉淀为线粒体。
- 在沉淀 (线粒体) 中加入 200μL 试剂二和 2μL 试剂三, 超声波破碎 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10 秒, 重复 30 次), 液体置于冰上用于线粒体中琥珀酸脱氢酶 (SDH) 活性测定。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例进行提取, 或按照细菌/细胞数量 ( $10^4$ ): 提取液 (mL) 为 500~1000: 1 的比例进行提取。

2. 原核生物 (细菌) 样本制备:

- 先收集细菌到离心管内, 离心后弃上清;
- 取约 500 万细菌加入 1mL 试剂二, 超声波破碎细菌 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次);
- 12000rpm 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 按照每  $0.5\sim 1\times 10^7$  个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样本:

澄清的液体样本直接检测, 若浑浊则于 12000rpm 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



## 二、样品测定

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 600nm。
2. 所有试剂解冻至室温（25°C）。
3. 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（ $\mu\text{L}$ ）	测定管
试剂四	180
试剂五	10
样本	50
混匀，室温（25°C）下，10s 时立即于 600nm 处读取 A1，5min 后读取 A2， $\Delta A=A1-A2$ 。	

【注】若  $\Delta A$  差值较小，可以延长反应时间 T（如增至 15min 或更长），或加大样本量 V1（如增至 70 $\mu\text{L}$ ），则改变后的反应时间 T 和样本体积 V1 代入计算公式重新计算。

## 三、结果计算

1. 线粒体制备样本的计算公式：

- ① 按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟使 A600 变化 0.005 定义为一个酶活性单位。

$$\text{SDH 活性(U/mg prot)} = \Delta A \div 0.005 \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T = 800 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

- ② 按样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每分钟使 A600 变化 0.005 定义为一个酶活性单位。

$$\text{SDH 活性(U/g 鲜重)} = \Delta A \div 0.005 \div (W \times V1 \div V) \div T = 161.6 \times \Delta A \div W$$

- ③ 按细胞密度计算：

酶活定义：每 1 万个细胞每分钟使 A600 变化 0.005 定义为一个酶活性单位。

$$\text{SDH 活性(U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div 0.005 \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.202 \times \Delta A$$

2. 原核生物（细菌）样本的计算公式：

- ① 按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟使 A600 变化 0.005 定义为一个酶活性单位。

$$\text{SDH 活性(U/mg prot)} = \Delta A \div 0.005 \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T = 800 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

- ② 按细菌数量计算：

酶活定义：每 1 万个细菌每分钟使 A600 变化 0.005 定义为一个酶活性单位。

$$\text{SDH 活性(U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div 0.005 \div (500 \times V1 \div V2) \div T = 1.6 \times \Delta A$$

3. 液体样本的计算公式：

酶活定义：每毫升液体样本每分钟使 A600 变化 0.005 定义为一个酶活性单位。

$$\text{SDH 活性(U/mL)} = \Delta A \div 0.005 \div V1 \div T = 800 \times \Delta A$$

V1---加入样本体积，0.05mL

V2---细菌的提取液体积，1mL

W---样本鲜重，g

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL

V---加入提取液体积，0.202 mL

T---反应时间，5 min

500---细菌或细胞总数，万

## 注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 有效期：

-20°C 保存六个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

