

CheKine™ 琥珀酸脱氢酶 (SDH) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB1230

规格: 96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动植物组织、细胞和细菌
	保质期: -20℃, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

琥珀酸脱氢酶 (Succinate dehydrogenase, 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。

本试剂盒检测原理是 SDH 可以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, 从而还原 2,6-二氯靛酚 (2,6-DCPIP), 2,6-DCPIP 在 605 nm 处具有特征吸收峰, 通过检测 605 nm 吸光度的变化测定 2,6-DCPIP 的还原速度, 计算得到样本中 SDH 酶活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格	储存要求
	96 T	
Extraction Buffer I	60 mL×2	4℃
Extraction Buffer II	1.5 mL	-20℃, 避光保存
Reagent I	Powder×1 vial	4℃, 避光保存
Reagent II	Powder×1 vial	-20℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 605 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水/PBS	样本稀释用/样本清洗用
其他	匀浆器（组织样本）、低温离心机、水浴锅、制冰机、 可调式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer I	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Extraction Buffer II	即用型	-20℃避光保存
Working Reagent I	临用前配制，加入 43.2 mL 去离子水	未用完的试剂请 4℃避光保存 1 个月； Working Reagent I 有少许沉淀属正常现象，如对结果有影响，请过滤
Working Reagent II	临用前配制，加入 1.2 mL 去离子水	未用完的试剂请分装-20℃避光保存 1 个月，避免反复冻融

05-2 样本制备

- 注意：1.推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。处理好的样本须当天检测。测定过程中样本和所有试剂在冰上放置，以免变性和失活。
- 2.提取液中含有使蛋白变性的成分，若按蛋白浓度计算时，需要重新用去离子水提取蛋白进行测定。
- 动植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer I 和 10 μL Extraction Buffer II，冰浴匀浆，11000 g，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。
 - 细胞或细菌：收集 5×10⁶ 个细胞或细菌，用预冷的 PBS 清洗细胞或细菌，800 g 离心 2 min，弃上清。加入 1 mL Extraction Buffer I 和 10 μL Extraction Buffer II 进行冰浴超声破碎。超声波破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），4℃，11000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

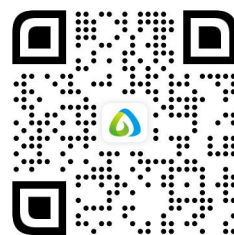
05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 605 nm。
2. Reagent I 在 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）水浴提前预热 10 min。
3. 检测体系配制：在 96 孔板中依次加入 10 μL 样本、180 μL Working Reagent I 和 10 μL Working Reagent II。
4. 吸光度检测：迅速混匀，立即测定 605 nm 处第 20 s 时吸光度为 A₁，置于 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）孵育 5 min，记录第 5 min 20 s 时吸光值为 A₂。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A = A_1 - A_2$

2. 样本 SDH 含量计算

● 按样本质量计算

单位的定义：在 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）中，每 g 组织在反应体系中每分钟催化 1 nmol 2,6-二氯靛酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{SDH (U/g)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 384.76 \times \Delta A \div W$$

● 按细胞或细菌数量计算

单位的定义：在 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）中，每 1 万个细胞和细菌在反应体系中每分钟催化 1 nmol 2,6-二氯靛酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{SDH (U/10}^4\text{)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}} \times N) \div T = 384.76 \times \Delta A \div N$$

● 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：在 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）中，每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化 1 nmol 2,6-二氯靛酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{SDH (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}} \times \text{Cpr}) \div T = 384.76 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：2,6-二氯靛酚摩尔消光系数， 2.1×10^4 L/mol/cm； d ：0.5 cm； $V_{\text{样本}}$ ：加入样本体积，0.01 mL； $V_{\text{提取}}$ ：加入提取液体积，1.01 mL； T ：反应时间，5 min； 10^9 ：单位换算系数， $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ ； W ：样品质量，g； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； N ：细胞或细菌数量，以 10^4 为单位（例如细胞数量为 5×10^6 ， $N=500$ ）。

07 结果展示

示例-1：取 0.1g 小鼠肝脏，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A = A_1 - A_2 = 0.335 - 0.133 = 0.202$ 。按样本质量计算得：SDH (U/g) = $384.76 \times \Delta A \div W = 777.21$ U/g。

示例-2：取 0.1g 小鼠肺脏，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A = A_1 - A_2 = 0.267 - 0.177 = 0.090$ 。按样本质量计算得：SDH (U/g) = $384.76 \times \Delta A \div W = 346.28$ U/g。

08 FAQ

● 检测得到的样本ΔA 过高或者过低怎么办？

如果ΔA 小于 0.001 可适当加大样本量或延长反应时间 10-15 min。如果ΔA 大于 0.3，样本可用 Extraction Buffer I 进一步稀释，或减少提取用样本量，再重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1270	CheKine™ 丙酮酸脱氢酶（PDH）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1250	CheKine™ 线粒体异柠檬酸脱氢酶（ICDHm）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1023	CheKine™ 柠檬酸合酶（CS）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1240	CheKine™ α-酮戊二酸脱氢酶（α-KGDH）活性检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 琥珀酸脱氢酶 (SDH) 活性检测流程示意图

(AbbKine 货号：KTB1230)

