

## 琥珀酸脱氢酶（SDH）活性检测试剂盒说明书

微量法

**注意：**本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0955

规格：100T/96S

**产品组成：**使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

| 试剂名称 | 规格            | 保存条件   |
|------|---------------|--------|
| 试剂一  | 液体 110 mL×1 瓶 | -20℃保存 |
| 试剂二  | 液体 0.6 mL×2 支 | -20℃保存 |
| 试剂三  | 液体 18 mL×1 瓶  | 2-8℃保存 |
| 试剂四  | 液体 1.5 mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂五  | 液体 3 mL×1 瓶   | 2-8℃保存 |

溶液的配制：

1、试剂二：为易挥发试剂，用完后尽快密封，-20℃保存。

### 产品说明：

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。

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吸光度的变化，测定2,6-DCPIP的还原速度，代表SDH酶活性。



**注意：**实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

### 操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织样本：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一和 10μL 试剂二，用冰浴匀浆器或研钵匀浆充分研磨，4℃ 11000g 离心 10min，取上清，置冰上待测。
2. 细胞或者细菌样本：先收集 5 百万细菌/细胞到离心管内，离心后弃上清；之后加入 1mL 试剂一和 10μL 试剂二，冰浴超声波破碎细菌（功率 200W，超声 3s，间隔 7s，总时间 5min）；然后 11000g，4℃，离心 10 min，





取上清置于冰上待测。

## 二、测定步骤

- 1、分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至600nm，分光光度计用蒸馏水调零。
- 2、使用前根据样本量将试剂三置于37°C（哺乳动物）或25°C（其它物种）预热10min。
- 3、样本测定（在96孔板/微量比色皿中加入下列试剂）：

| 试剂名称（μL）                                                                                                                                              | 测定管 | 空白管 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 试剂三                                                                                                                                                   | 170 | 170 |
| 试剂四                                                                                                                                                   | 10  | 10  |
| 样本                                                                                                                                                    | 10  | -   |
| 蒸馏水                                                                                                                                                   | -   | 10  |
| 试剂五                                                                                                                                                   | 10  | 10  |
| 充分混匀，立即测定600nm波长下20s时的初始吸光度A1，然后迅速置于37°C（哺乳动物）或25°C（其他物种）反应5min，测定5min20s时的吸光度A2，计算 $\Delta A = A1 - A2$ ，得到 $\Delta A$ 测定、 $\Delta A$ 空白。空白管只需测1-2次。 |     |     |

## 三、SDH 活性的计算

### a.用微量比色皿测定的计算公式如下

#### (1) 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟消耗1nmol 2,6-二氯酚靛酚定义为一个酶活性单位。

$$\text{SDH活性 (U/mg prot)} = [(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T$$

$$= 190.476 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div C_{\text{pr}}$$

#### (2) 按样本质量计算

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟消耗1nmol 2,6-二氯酚靛酚定义为一个酶活性单位。

$$\text{SDH活性 (U/g 质量)} = [(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T$$

$$= 192.381 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W$$

#### (3) 按细菌或细胞数量计算

单位的定义：每1万个细菌或细胞在反应体系中每分钟消耗1nmol 2,6-二氯酚靛酚定义为一个酶活性单位。

$$\text{SDH活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = [(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times N) \div T$$

$$= 192.381 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div N$$

V反总：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，2.1×10<sup>4</sup>L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；

V样：加入样本体积，0.01mL；V样总：加入试剂一和试剂二体积，1.01mL；T：反应时间，5min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细菌或细胞总数；10<sup>9</sup>：单位换算系数，1mol=10<sup>9</sup>nmol。

### b.用96孔板测定的计算公式如下

#### (1) 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟消耗1nmol 2,6-二氯酚靛酚定义为一个酶活性单位。

$$\text{SDH活性 (U/mg prot)} = [(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T$$

$$= 317.460 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div C_{\text{pr}}$$

#### (2) 按样本质量计算

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟消耗1nmol 2,6-二氯酚靛酚定义为一个酶活性单位。

$$\text{SDH活性 (U/g 质量)} = [(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T$$



$$=320.635 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W$$

### (3) 按细菌或细胞数量计算

单位的定义：每1万个细菌或细胞在反应体系中每分钟消耗1nmol 2,6-二氯酚靛酚定义为一个酶活性单位。

$$\text{SDH活性 (U/10}^4\text{ cell)} = [(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times N) \div T$$

$$=320.635 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div N$$

V反总：反应体系总体积， $2 \times 10^{-4}$ L； $\epsilon$ ：2,6-二氯酚靛酚摩尔消光系数， $2.1 \times 10^4$ L/mol/cm；d：96孔板光径，0.6cm；

V样：加入样本体积，0.01mL；V样总：加入试剂一和试剂二体积，1.01mL；T：反应时间，5min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细菌或细胞总数； $10^9$ ：单位换算系数，1mol=10<sup>9</sup>nmol。

### 注意事项：

- 1、测定过程中所有试剂（除预热试剂）和样本在冰上放置，以免变性失活。
- 2、若 $\Delta A$ 大于0.6（比色皿）/0.4（96孔板），需将酶液用蒸馏水稀释，使 $\Delta A$ 小于0.5/0.3，可提高检测灵敏度。注意同步修改计算公式。
- 3、由于试剂一中含有一定浓度的蛋白（约1mg/mL），所以测定样本蛋白浓度时需要减去试剂一本身的蛋白含量（约1mg/mL）。

### 实验实例：

- 1、取 0.1037g 大鼠肝脏加入 1mL 试剂一和 10 $\mu$ L 试剂二，用冰浴匀浆器匀浆充分研磨，4°C 11000g 离心 10min，取上清置冰上。按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}} = 0.561 - 0.208 = 0.353$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}} = 0.814 - 0.814 = 0$ ，按样本质量计算酶活得：  
 $\text{SDH活性 (U/g 质量)} = 320.635 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W = 1091.458 \text{ U/g 质量}$ 。

### 相关发表文献：

- [1] Chong D, Gu Y, Zhang T, Xu Y, Bu D, Chen Z, Xu N, Li L, Zhu X, Wang H, Li Y, Zheng F, Wang D, Li P, Xu L, Hu Z, Li C. Neonatal ketone body elevation regulates postnatal heart development by promoting cardiomyocyte mitochondrial maturation and metabolic reprogramming. *Cell Discov.* 2022 Oct 11;8(1):106. doi: 10.1038/s41421-022-00447-6. PMID: 36220812; PMCID: PMC9553951.
- [2] Cai B, Ma M, Zhang J, Wang Z, Kong S, Zhou Z, Lian L, Zhang J, Li J, Wang Y, Li H, Zhang X, Nie Q. LncEDCH1 improves mitochondrial function to reduce muscle atrophy by interacting with SERCA2. *Mol Ther Nucleic Acids.* 2021 Dec 10;27:319-334. doi: 10.1016/j.omtn.2021.12.004. PMID: 35024244; PMCID: PMC8717430.
- [3] Ma M, Cai B, Zhou Z, Kong S, Zhang J, Xu H, Zhang X, Nie Q. LncRNA-TBP mediates TATA-binding protein recruitment to regulate myogenesis and induce slow-twitch myofibers. *Cell Commun Signal.* 2023 Jan 12;21(1):7. doi: 10.1186/s12964-022-01001-3. PMID: 36635672; PMCID: PMC9835232.
- [4] Zhang Z, Luo W, Chen G, Chen J, Lin S, Ren T, Lin Z, Zhao C, Wen H, Nie Q, Meng X, Zhang X. Chicken muscle antibody array reveals the regulations of LDHA on myoblast differentiation through energy metabolism. *Int J Biol Macromol.* 2024 Jan;254(Pt 1):127629. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.127629. Epub 2023 Oct 25. PMID: 37890747.
- [5] Wang Q, Zhou X, Gou H, Chang H, Lan J, Li J, Li Z, Gao M, Wang Z, Yi Y, Li N. Antibacterial activity of a polysaccharide isolated from *Artemisia argyi* leaf against *Staphylococcus aureus* and mechanism investigation. *Int J*





Biol Macromol. 2023 Dec 31;253(Pt 1):126636. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.126636. Epub 2023 Aug 30. PMID: 37657565.

#### 参考文献:

- [1] Cimen H, Han MJ, Yang Y. et al. Regulation of succinate dehydrogenase activity by SIRT3 in mammalian mitochondria[J]. Biochemistry, 2010, 49(2): 304-311.

#### 相关系列产品:

- BC0710/BC0715  $\alpha$ -酮戊二酸脱氢酶 ( $\alpha$ -KGDH) 活性检测试剂盒  
BC2150/BC2155 柠檬酸 (CA) 含量检测试剂盒  
BC0380/BC0385 丙酮酸脱氢酶 (PDH) 活性检测试剂盒

