

琥珀酸脱氢酶（SDH）测试盒说明书(精简版)

(货号: A022-1-1 50 管/48 样)

免责声明: 测试前请仔细阅读说明书,预试后再进行批量实验,
否则由此导致的后果用户自行承担!

一、测定原理:

琥珀酸脱氢酶 (SDH) 催化底物反应, FAD 是该反应的辅基, FAD 被还原成 FADH, 该反应与 2,6- DPIP 的还原相偶联, 测定 2,6-DPIP 的还原速度可以推算出 SDH 的活力。

二、试剂组成与配制: (试剂盒有效期 3 个月)

试剂一: 液体 60mL×2 瓶, 4℃冷藏;

试剂二: 液体 6mL×1 瓶, 避光 4℃冷藏;

试剂三: 液体 6mL×1 瓶, 避光 4℃冷藏;

试剂四: 液体 6mL×2 瓶, 避光 4℃冷藏;

试剂五: 液体 6mL×1 瓶, 避光-20℃冷藏, 如需分多次使用, 建议将试剂五分装后冷冻保存, 避免多次的反复冻融;

试剂六: 液体 6mL×1 瓶, 4℃冷藏。

工作液的配制:按**试剂一:试剂二:试剂三:试剂四:试剂五:试剂六=2 : 0.1 : 0.1 : 0.2 : 0.1 : 0.1** 的比例进行配制,用多少配多少,现用现配,配好后一定要**避光**。

三、所需仪器耗材及试剂:

含 600nm 波长的分光光度计及 1cm 光径比色皿、37℃水浴锅、台式低速离心机、各种规格移液器、双蒸水、生理盐水 (0.9%) 或 PBS (0.1M)、涡旋混匀器、离心管、蛋白测定试剂 (组织及细胞样本用, 本公司有售)。

四、样本前处理:

组织样本: 准确称取组织重量, 按重量 (g): 体积 (mL) =1:9 的比例, 加入 9 倍体积的生理盐水, 冰水浴条件下机械匀浆, 2500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清液待测 (同时取部分上清测定蛋白浓度, 蛋白定量试剂盒本所有售)。

血清 (浆): 取不抗凝或抗凝全血 1000~1500 转/分, 离心 8 分钟, 取上层血清 (浆) 待测。

五、操作步骤:

- 将可见分光光度计于 600nm 处, 1cm 光径比色皿, 以双蒸水调零 (比色皿准备两只, 一只用于调零, 一只用于测定)。
- 将**工作液** 37℃避光预温 5 分钟以上。
- 往相应编号的试管中加入 100μL 待测样本, 用 5mL 移液器吸取 2.6mL **工作液**迅速冲入试管中, 立即混匀并计时。
- 迅速倒入比色皿中在可见分光光度计 600nm 处比色, 10 秒时读取吸光度值 (A₁ 值), 在 1 分 10 秒时再次测定吸光度值 (A₂ 值);
- 求出 2 次吸光度差值 (ΔA=A₁-A₂)。

注意点:

- 工作液一定要避光保存, 测定过程中工作液同样要避光;
- 比色皿必须用自来水冲洗干净, 再用双蒸水洗 2~3 次后, 才能对下一个样本进行检测;
- 在比色皿中加完样后, 下一步加试剂与按秒表需同步;
- 在比色皿中加完试剂后, 必须快速放入分光光度计的比色槽中;
- 试剂二、试剂三、试剂四、试剂五必须避光冷藏;
- 配好的混合试剂在测定前必须预温。

六、计算公式及举例:

1、组织中琥珀酸脱氢酶活力的计算:

①、定义: 每毫克蛋白每分钟使反应体系的吸光度降低 0.01 为 1 个比活性单位。

②、计算公式:

$$\text{SDH活力 (U/mgprot)} = \frac{\Delta A \div 0.01}{T} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr})$$

T: 反应时间, 1 分钟;

V_样: 组织匀浆加入量, 0.1mL;

Cpr: 待测样本蛋白浓度, mgprot/mL (prot 指蛋白)。

2、血清中琥珀酸脱氢酶活力的计算:

①、定义: 每毫升血清每分钟使反应体系的吸光度降低 0.01 为 1 个比活性单位。

②、计算公式:

$$\text{SDH活力 (U/mL)} = \frac{\Delta A \div 0.01}{T} \div V_{\text{样}}$$

T: 反应时间, 1 分钟;

V_样: 血清加入量, 0.1mL;