Strombine 脱氢酶(SDH)酶活测定试剂盒说明书

（货号：G0888F 紫外法 48 样）

一、产品简介：

海洋无脊椎动物主要存在 4 种无氧代谢途径，其中葡萄糖-opine 途径在无氧代谢初期发挥了重要作用，无脊椎动物中特有的 Opine 脱氢酶 (OpDHs)保证了这一过程的顺利进行。Strombine 脱氢酶(SDH；EC 1.5.1.22)是 Opine 脱氢酶 (OpDHs)系列酶中的一种。

Strombine 脱氢酶(SDH)催化丙酮酸和特异底物甘氨酸反应生成相应的亚氨基酸，同时使 NADH 发生氧化，通过检测 NADH 在特征吸收波长 340nm 处的下降速率即可得出 SDH 酶活性大小。

二、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 mg×2 支	-20℃保存	用前甩几下或离心使粉剂落入底部，每支分别加 0.55mL 蒸馏水溶解备用。用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融，一周内用完。
试剂二	液体μL×1 支	4℃保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部，再加 1.1mL 蒸馏水溶解备用。
试剂三	液体 32mL ×1 瓶	4℃保存	

三、所需的仪器和用品：

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿（光径 1cm）、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

四、Strombine 脱氢酶(SDH)活性测定：

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！

1、样本制备：

称取约 0.1g 组织样本，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【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

2、上机检测：

① 紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。

② 在 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
样本	60
试剂一	20
试剂二	20
试剂三	600
混匀，室温（25℃）下，于 340nm 读取吸光值 A1，5min 后读取吸光值 A2，ΔA= A1-A2。	

五、结果计算：

1、按样本蛋白浓度计算：

定义：每毫克组织蛋白在每分钟内氧化 1 nmol NADH 所需酶量定义为一个酶活力单位。

SDH(nmol/min/mg prot)=[ΔA×V2÷(ε×d)×10^9]÷(V1×Cpr) ÷T=375.13×ΔA÷Cpr

2、按样本鲜重计算：

定义：每克组织在每分钟内氧化 1nmol NADH 所需酶量定义为一个酶活力单位。

SDH(nmol/min/g 鲜重)=[ΔA×V2÷(ε×d)×10^9]÷(W×V1÷V)÷T=375.13×ΔA÷W

V---加入提取液体积，1 mL；

V1---加入样本体积，0.06mL；

V2---反应体系总体积，7×10^{-4} L；

d---光径，1cm；

ε---NADH 摩尔消光系数，6.22×10^3 L/mol/cm；

W---样本质量，g；

T---反应时间，5min；

Cpr---蛋白浓度（mg/mL），建议使用本公司的 BCA 蛋白含量测定试剂盒。