

山梨醇脱氢酶活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1265

产品规格：100管/96样

产品简介：

SDH（EC1.1.1.14）催化山梨醇脱氢生成果糖，是调控生物体内山梨醇含量的关键酶之一。SDH催化山梨醇脱氢生成果糖，同时还原NAD⁺生成NADH，生成的NADH能将电子传递给NBT生成紫色的甲臞，根据这一原理可以计算SDH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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体110mL×1瓶	4℃
试剂一	粉剂×1瓶	4℃
试剂二	粉剂×1瓶	-20℃
试剂三	粉剂×1瓶	-20℃
试剂四	粉剂×5瓶	-20℃
试剂五	液体30mL×1瓶	4℃
标准品	粉剂×1支	-20℃

溶液的配制：

1. 试剂一：取17mL试剂五加入试剂一粉剂中，溶解后4℃保存；
2. 试剂二：临用前加入4mL试剂五，充分溶解后，可以每瓶0.8mL分装，-20℃保存；
3. 试剂三：临用前加入4mL试剂五，充分溶解后，可以每瓶0.8mL分装，-20℃保存；
4. 试剂四：临用前每瓶加入3.4mL试剂一，现用现配，24h变质；
5. 标准品：临用前加入1.4mL蒸馏水，即10μmol/mL NADH标准品。-20℃保存一周。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、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. 细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（10⁴个）：提取液体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细菌或细胞加入1mL提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率20%或200W，超声3s，间隔10s，重复30次）；8000×g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。
2. 组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液），进行冰浴匀浆。8000×g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。
3. 血清（浆）样本：直接检测。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至570nm，蒸馏水调零。
2. 标准管的测定：将10 μ mol/mL NADH标准品用水稀释至1.5、1、0.9、0.8、0.7、0.6、0.5、0.4、0.3 μ mol/mL的标准溶液，然后按下表操作：

试剂名称(μ L)	标准管	空白管
标准溶液	20	-
蒸馏水	-	20
试剂二	30	30
试剂三	30	30
试剂四	120	120

混匀后室温避光放置20min，取200 μ L于微量玻璃比色皿/96孔板中分别测定标准管和空白管在570nm下的吸光度，记为A标准管、A空白管，计算 ΔA 标准=A标准管-A空白管。

3. 样本的测定：

试剂名称(μ L)	测定管
样本	20
试剂二	30
试剂三	30
试剂四	120

将上述试剂按顺序加微量玻璃比色皿/96孔板中，加样本的同时开始计时，记录10秒时的初始吸光度A1，比色后迅速将比色皿连同反应液一起放入37 $^{\circ}$ C（哺乳动物）或25 $^{\circ}$ C（其它物种）水浴中准确反应3分钟；迅速取出比色皿并擦干，570nm下比色，记录3分10秒时的吸光度A2，计算 ΔA 测定=A2-A1。（整个实验过程要避光）

三、SDH活性计算

1. 标准曲线的绘制：

以 ΔA 标准为y轴，以标准溶液浓度为x轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入方程得到x（ μ mol/mL）。

2. SDH活性计算：

- (1) 血清（浆）SDH活力的计算

单位的定义：每毫升血清（浆）每分钟生成1nmolNADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{SDH (U/mL)} = 1000 \times x \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T = 333 \times x$$

- (2) 组织、细菌或细胞中SDH活力的计算

- 1) 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：每mg组织蛋白每分钟生成1nmolNADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{SDH (U/mg prot)} = 1000 \times x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 333 \times x \div \text{Cpr}$$

- 2) 按样本质量计算

单位的定义：每g组织每分钟消耗1nmolNADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{SDH (U/g 质量)} = 1000 \times x \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 333 \times x \div W$$

- 3) 按细菌或细胞数量计算

单位的定义：每1万个细菌或细胞每分钟生成1nmolNADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{SDH (U/10}^4 \text{ cell)} = 1000 \times x \times V_{\text{样}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.666 \times x$$

V样：加入样本体积，0.02 mL；V样总：提取液体积，1mL；T：反应时间，3min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500万；1000：单位换算系数，1 μ mol=1000nmol。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

注意事项:

1. ΔA 大于 0.7 时, 建议将样本用提取液稀释后测量。
2. 测定过程中样本和工作液在冰上放置, 以免变性和失活。
3. 比色皿中反应液的温度必须保持 37°C 或 25°C, 取小烧杯一只装入一定量的 37°C 或 25°C 蒸馏水, 将此烧杯放入 37°C 或 25°C 水浴锅中。在反应过程中把比色皿连同反应液放在此烧杯中。

参考文献:

Aguayo M F, Ampuero D, Mandujano P, et al. Sorbitol dehydrogenase is a cytosolic protein required for sorbitol metabolism in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant science*, 2013, 205: 63-75.



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>