



NAD⁺-山梨醇脱氢酶(NAD⁺-SDH)试剂盒

可见分光光度法

货号: R43973-24S

产品简介:

山梨醇作为一种运输糖,被卸载到果实中时转化成其他糖类物质,山梨醇氧化酶(sorbitol oxidase,SOX)就是山梨醇转化和利用过程中的关键酶之一,该酶与果实的品质以及果实中糖类物质的积累密切相关。

山梨醇氧化酶(SOX)催化山梨醇生成葡萄糖,葡萄糖进一步与3,5-二硝基水杨酸反应,生成棕红色氨基化合物,经光谱扫描在540nm 有特征光吸收,在一定范围内540nm 光吸收增加速率与山梨醇氧化酶 (SOX) 活性成正比。

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30mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体7mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂mg×1支	4℃保存	用前加入1.5mL蒸馏水充分溶解备用;用不完的试剂4℃保存;
试剂三	液体10mL×1瓶	4℃保存	
标准品	粉体mg×1支	4℃保存	若重新做标曲,则用到该试剂

所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径1cm)、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

山梨醇氧化酶 (SOX) 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:



称样本0.1g (水分充足的样本可取0.5g) 于研钵中, 加入1mL 提取液, 冰浴匀浆后转入离心管中。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:

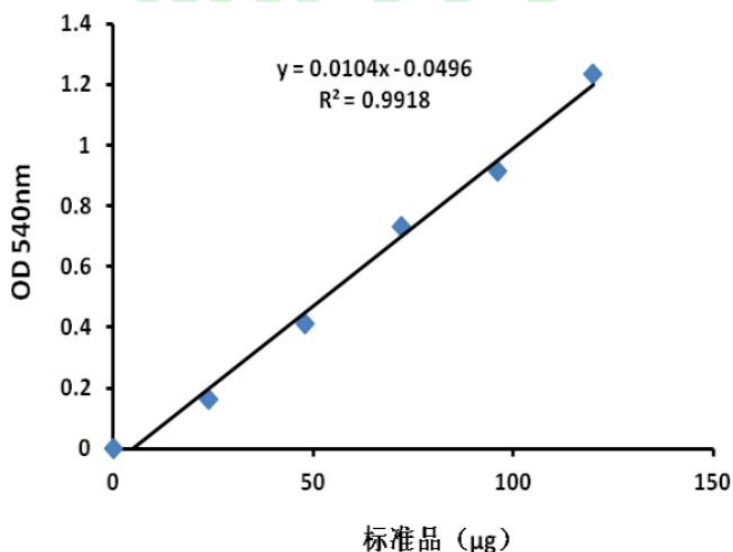
①可见分光光度计预热30min以上, 调节波长至540nm, 蒸馏水调零。

②在EP管中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	对照管
样本	40	40
试剂一	120	160
试剂二	40	
混匀, 30℃(水浴锅或恒温培养箱)下孵育30min		
试剂三	200	200
混匀, 沸水浴(95-100℃)(可用封口膜缠紧EP管)5min, 流水冷却		
蒸馏水	400	400
混匀, 全部澄清液体转入1mL玻璃比色皿中, 于540nm处读取吸光值 $A, \Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本自身需做一个自身对照)。		

结果计算:

1、标准曲线方程为 $y = 0.0104x - 0.0496$; x为标准品质量(μg), y为 ΔA 。





2、按蛋白浓度计算:

单位定义: 37℃每毫克蛋白每分钟产生1 μg 葡萄糖定义为一个酶活性单位。

$$\text{山梨醇氧化酶 (SOX)}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot})=[(\Delta A+0.0496)\div 0.0104]\div(V1\times Cpr)\div T$$
$$=80.1\times(\Delta A+0.0496)\div Cpr$$

3、按鲜重计算:

单位的定义: 37℃每克组织每分钟产生1μg 葡萄糖定义为一个酶活性单位。

$$\text{山梨醇氧化酶 (SOX)}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重})=[(\Delta A+0.0496)\div 0.0104]\div(W\times V1\div V)\div T$$
$$=80.1\times(\Delta A+0.0496)\div W$$

V----加入提取液体积, 1mL;

V1----加入反应体系中样本体积, 0.04mL;

T---- 反应时间, 30min;

W--- 样本鲜重, g;

Cpr---- 样本蛋白质浓度, mg/mL; 建议使用本公司的BCA 蛋白含量检测试剂盒;

附: 标准曲线制作过程:

1.制备标准品母液(3mg/mL): 向标准品EP 管里面加入1mL 蒸馏水(母液需在两天内用且-20℃保存)。

2.把母液稀释成六个浓度梯度的标准品: 0,0.6,1.2,1.8,2.4,3.mg/mL 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。

3.按照测定管的加样顺序依次加样操作, 根据结果即可制作标准曲线。