

山梨醇脱氢酶（SH）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1180

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：动植物组织、细胞、细菌、血清（浆）等液体样本

产品简介

山梨醇脱氢酶(Sorbitoldehydrogenase, SH, EC 1.1.1.14) 又称艾杜醇脱氢酶(Iditol dehydrogenase, ID), 能可逆地催化 D-山梨醇脱氢生成 D-果糖, 是调控生物体内山梨醇含量的关键酶之一。山梨醇脱氢酶广泛存在于动物、植物、微生物和体外培养细胞中。人体内此酶主要分布于肝脏, 肾、脑、心、脾等组织中含量极少, 血清中此酶活力很低, 如酶活力升高, 强烈提示肝损害。本试剂盒提供了一种简单、方便、快速的山梨醇脱氢酶活性检测方法, 其原理是山梨醇脱氢酶催化山梨醇脱氢生成果糖, 同时还原 NAD⁺生成 NADH, NADH 在 340nm 处有特征吸收峰, 测定 340nm 吸光度增加速率可以计算山梨醇脱氢酶活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	5mL	10mL	4℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	4℃保存

自备耗材

酶标仪或分光光度计（能测 340nm 处的吸光度）
96 孔 UV 板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头
水浴锅、制冰机, 低温离心机
去离子水
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。
试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。
试剂二：48T 在试剂二瓶中加入 3.8mL 试剂一和 5.7mL 去离子水, 96T 在试剂二瓶中加入 7.6mL 试剂一和 11.4mL 去离子水充分溶解。用不完的试剂 4℃保存一周, 或分装后-20℃保存, 避免反复冻融。

样本制备

- 动物组织：称取约 0.1g 样本, 加入 1mL 提取液, 冰浴匀浆, 8,000g, 4℃离心 10min, 取上清液置冰上待测。
- 植物组织：称取约 0.1g 样本, 加入 1mL 提取液捣碎, 冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W, 超声 3s, 间隔 7s, 重复 30 次）, 8,000g, 4℃离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。
- 细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内, 用冷 PBS 清洗细胞, 离心后弃上清, 加入 1mL 提取液, 冰浴超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W, 超声 3s, 间隔 7s, 重复 30 次）, 然后 8,000g, 4℃离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。
- 血清（浆）：直接测定。

产品说明书

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存1个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用BCA法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。对于脂肪含量较高的动物组织，离心后移除上层脂肪，再取上清液。

实验步骤

1. 酶标仪或分光光度计预热30min以上，调节波长到340nm。分光光度计去离子水调零。
2. 试剂二置于37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）水浴10min。
3. 在96孔UV板或微量石英比色皿中依次加入10μL样本和190μL试剂二，迅速混匀后于340nm检测，记录20s和2min20s的吸光值，分别记为A₁和A₂，计算ΔA=A₂-A₁。

注意：1. 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ΔA小于0.001可适当加大样本量；如果ΔA大于0.3，可用提取液稀释样品，计算时结果乘以稀释倍数。

2. 测定反应的温度对测定结果有影响，请控制在25℃（一般物种）或者37℃（哺乳动物）。
3. 因通过反应速率计算酶活，使用96孔UV板时请根据操作速度控制一次测定的样本数（通常一次测定4-8个样本），不推荐同时测多个样本。

结果计算

A. 使用96孔板测定的计算公式

1. 按样本鲜重计算：

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟生成1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$SH(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 3215 \times \Delta A \div W$$

2. 按细胞密度计算：

单位的定义：每1万个细胞在反应体系中每分钟生成1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$SH(\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 6.43 \times \Delta A$$

3. 按液体体积计算：

单位的定义：每mL液体样本在反应体系中每分钟生成1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$SH(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 3215 \times \Delta A$$

4. 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生成1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$SH(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 3215 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

V_{反应}：反应体系总体积，2×10⁻⁴ L；ε：NADH摩尔消光系数，6.22×10³ mol/L/cm；d：96孔板光径，0.5cm；10⁹：1mol=1×10⁹nmol；V_样：加入样本体积，0.01mL；V_{样总}：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，2min；C_{pr}：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样品质量，g；500：细菌或细胞总数，500万。

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径d:0.5cm调整为d:1cm进行计算即可。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1179 山梨醇检测试剂盒（微量法）
- PMK1164 葡萄糖检测试剂盒（微量法）
- PMK1197 总糖检测试剂盒（微量法）
- PMK1176 糖原检测试剂盒（微量法）
- PMK1181 还原糖检测试剂盒（微量法）
- PMK1175 植物可溶性糖检测试剂盒（微量法）
- PMK1174 血糖检测试剂盒（微量法）



更多产品详情了解，请关注公众号：