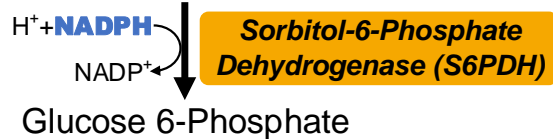




山梨醇-6-磷酸脱氢酶 (S6PDH) 活性检测试剂盒

Sorbitol-6-Phosphate Dehydrogenase (S6PDH) Activity Assay Kit

Sorbitol 6-Phosphate



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



山梨醇-6-磷酸脱氢酶 (S6PDH) 活性检测试剂盒

Sorbitol-6-Phosphate Dehydrogenase (S6PDH) Activity Assay Kit

一、产品描述

山梨醇-6-磷酸脱氢酶 (S6PDH) 是植物中重要的代谢酶, 主要分布于叶片的叶绿体和胞液中, 参与碳水化合物代谢和糖醇代谢过程, 其主要功能是催化山梨醇-6-磷酸与葡萄糖-6-磷酸之间的可逆反应, 是合成山梨醇的关键酶, 在植物逆境生物学、果实品质改良以及植物育种等研究中具有重要意义。

山梨醇-6-磷酸脱氢酶能够催化山梨醇-6-磷酸和 NADPH 生成葡萄糖-6-磷酸和 NADP⁺, NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征山梨醇-6-磷酸脱氢酶的活性。

二、产品内容

名称		试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液		液体 100 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	组分 A	液体 20 mL×1 瓶	4°C 保存	使用前将组分 B 加入组分 A 中充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月, 避免反复冻融)
	组分 B	粉剂×1 支	-20°C 保存	

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 酶标仪、96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①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 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 按照细菌或细胞数量 (10⁴ 个): 提取液体积 (mL) 为 (1000-2000): 1 的比例 (建议 1000 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 200 W, 超声 3 s, 间隔 10 s, 重复 30 次), 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

③血清 (浆)、培养液等液体样本: 直接检测或使用提取液适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

- ①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm。
- ②使用前将试剂一置于 37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）预热 10 min 以上。
- ③在 96 孔 UV 板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
粗酶液	10
试剂一	190

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 1 min（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定；②准确反应 5 min，测定 6 min（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定；③计算 ΔA 测定 = A1 测定 - A2 测定。

3.山梨醇-6-磷酸脱氢酶（S6PDH）活性计算

- ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{S6PDH (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \text{ 测定} \times V \text{ 反总} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V \text{ 样} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{1286.17 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

- ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每分钟消耗 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{S6PDH (U/g)} = \frac{\Delta A \text{ 测定} \times V \text{ 反总} \times V \text{ 样总} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V \text{ 样} \times W \times T} = \frac{1286.17 \times \Delta A}{W}$$

- ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{S6PDH (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \text{ 测定} \times V \text{ 反总} \times V \text{ 样总} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V \text{ 样} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{1286.17 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

- ④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟消耗 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{S6PDH (U/mL)} = \frac{\Delta A \text{ 测定} \times V \text{ 反总} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V \text{ 样} \times T} = 1286.17 \times \Delta A$$

注释：V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADPH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；T：反应时间，5 min；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计； 10^9 ：单位换算系数，1 mol/L= 10^9 nmol/L。

四、注意事项

①若 A 测定或 ΔA 测定大于 1.5，建议将粗酶液适当稀释或缩短酶促反应时间后再进行测定；若 ΔA 测定小于 0.02，建议适当增加样本量或延长酶促反应时间后再进行测定，计算时相应修改；

②准确在 1 min 和 6 min 处完成吸光值测定，以保证实验结果的准确性和重复性；若同时测定多个样本时，应使用多道移液器且分批进行测定，以确保组间反应时间一致；

③若测定吸光值大于 3.0，建议检查比色材质是否为 **96 孔 UV 板**；

④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

