

Sorbitol-6-phosphate Dehydrogenase Activity Assay Kit

6-磷酸山梨醇脱氢酶活性说明书

货号:BN72023 | 方法:微板法 | 规格:96 样

一、产品简介:

6-磷酸山梨醇脱氢酶 (S6PDH, EC 1.1.1.200) 又称醛糖 6-磷酸还原酶 (Aldose-6-phosphate reductase, A6PR), 催化 D-山梨糖醇 6-磷酸和 D-葡萄糖 6-磷酸之间的相互转化。研究发现该酶在苹果叶片等蔷薇科植物中广泛分布, 其在山梨醇合成中起着重要作用。

6-磷酸山梨醇脱氢酶 (S6PDH) 催化 D-葡萄糖 6-磷酸还原, 并使还原型辅酶II (NADPH) 氧化。因此, 通过检测 340nm 下 NADPH 的下降速率, 即可得出 S6PDH 的酶活性大小。

该酶催化的反应: $\text{D-sorbitol 6-phosphate} + \text{NADP}^+ = \text{D-glucose 6-phosphate} + \text{NADPH} + \text{H}^+$

二、试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 mg×2 支	4℃保存	用前甩几下或离心使粉剂落入底部, 每支分别加 0.6mL 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, 三天内用完。
试剂二	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	粉剂 mg×1 支	4℃保存	临用前甩几下使粉剂落入底部, 再加 1.1mL 蒸馏水溶解备用。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰。

四、6-磷酸山梨醇脱氢酶 (S6PDH) 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:

① 组织样本: 称取约 0.1g 组织样本, 加入 1mL 提取液, 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 液体样本: 澄清的液体样本, 可直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 340nm。

② 所有试剂解冻至室温 (25℃), 或可于水浴锅 (25℃) 中孵育 15-25min。

③ 试剂一和二可按照 10:160 比例配成混合液 (一枪加 170μL 该混合液) (该混合液用多少配多少, 现配现用); 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	20
试剂一	10
试剂二	160
混匀, 室温 (25℃) 下孵育 10min	
试剂三	10

混匀，室温（25℃）下，于 340nm 处读取 A1，
10min 后读取 A2。ΔA=A1-A2。

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克组织蛋白在每分钟内氧化 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{S6PDH 活力}(\text{nmol/min/mg prot})=[\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T = 321.5 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2、按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织在每分钟内氧化 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{S6PDH 活力}(\text{nmol/min/g 鲜重})=[\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V1 \div V) \div T = 321.5 \times \Delta A \div W$$

3、按液体体积计算：

单位定义：每毫升液体在每分钟内氧化 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{S6PDH 活力}(\text{nmol/min/mL})=[\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V1 \div T = 321.5 \times \Delta A$$

V---加入提取液体积，1 mL；

V1---加入样本体积，0.02mL；

V2---反应体系总体积，2×10⁻⁴ L；

d---96 孔板光径，0.5cm；

ε---NADPH 摩尔消光系数，6.22×10³ L/mol/cm；

W---样本质量，g；

T---反应时间，10min；

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。