

## 山梨醇脱氢酶(SDH)活性检测试剂盒说明书

### Sorbitol dehydrogenase Assay Kit

分光光度法

货号: AK144

规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液 ES23	液体 60ml×1 瓶	4℃保存
AK144-A	液体 20ml×1 瓶	4℃保存
AK144-B	粉剂×1 瓶	4℃保存; 临用前每瓶加入 15mL 蒸馏水, 用不完的试剂仍 4℃保存。
AK144-C	粉剂×1 瓶	-20℃保存; 临用前每瓶加入 15mL 蒸馏水, 用不完的试剂仍-20℃保存。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 山梨醇脱氢酶 (Sorbitol dehydrogenase, SDH) (EC 1.1.1.14) 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。

原理: SDH 催化山梨醇脱氢生成果糖, 同时还原 NAD<sup>+</sup>生成 NADH, 测定 340nm 吸光度增加速率可以计算 SDH 活性。

自备用品:

紫外分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1 mL 石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

粗酶液提取:

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 ( $10^4$  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 ES23), 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); 8000g 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 ES23 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 ES23), 进行冰浴匀浆, 8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
3. 血清 (浆) 样品: 直接检测。

检测步骤:

1. 分光光度计预热 30min, 调节波长到 340 nm, 蒸馏水调零。
2. 在 1ml 玻璃比色皿中按顺序加入下列试剂:

试剂名称	测定管 (ul)
AK144-A	400
AK144-B	300
AK144-C	300
混匀, 37℃ (哺乳动物) 或 25℃ (其它物种) 准确水浴 5min	
样本	50
加样本的同时开始计时, 记录 20s 时的初始吸光度 A1 和 2min 20s 时的吸光度 A2, 计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。	

### 计算公式：

#### 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 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{SDH (U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 1688 \times \Delta A$$

#### 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 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{SDH (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 1688 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

##### （2）按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{SDH (U/g 鲜重)} &= [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 1688 \times \Delta A \div W \end{aligned}$$

##### （3）按细菌或细胞密度计算：

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

$$\text{SDH (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 3.376 \times \Delta A$$

**注：**V<sub>反总</sub>：反应体系总体积，1.05×10<sup>-3</sup> L；ε：NADH 摩尔消光系数，6.22×10<sup>3</sup> L/mol/cm；

d：比色皿光径，1cm；V<sub>样</sub>：加入样本体积，0.05 mL；V<sub>样总</sub>：加入提取液体积，1 mL；T：

反应时间，2 min；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。