

Sorbitol Oxidase Assay Kit

山梨醇氧化酶 (SOX) 测定试剂盒说明书

货号:BN72445 | 方法: 可见分光法 | 规格: 24 样

一、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。

二、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

三、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。

四、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

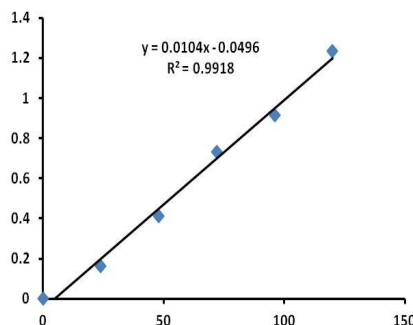
混匀，全部澄清液体转入 1mL 玻璃比色皿中，于 540nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A$ 测定-A 对照(每个样本自身需做一个自身对照)。

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



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按蛋白浓度计算：

单位定义：37°C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。

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

3、按鲜重计算：

单位的定义：37°C每克组织每分钟产生 1 μg 葡萄糖定义为一个酶活性单位。

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

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；