

植物脱氢酶(P-DHA)活性检测试剂盒

Plant Dehydrogenase Assay Kit

分光光度法

货号: AK475V

规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK475-A	粉剂×1 瓶	使用前加 25mL 蒸馏水溶解, 尽量现配现用, 4℃避光保存;
AK475-B	75mL×1 瓶	4℃保存;
AK475-C	丙酮	自备

※ 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: 生物体的脱氢酶(Plant dehydrogenase, PDHA)的活性在很大程度上反映了生物体的活性状态, 能直接表示生物细胞对其基质降解能力的强弱。

原理: 氢受体 2, 3, 5- 氯化三苯基四氮唑 (2,3,5-Triphenyl Tetrazolium Chloride, TTC) 在细胞呼吸过程中接受氢以后, 被还原为三苯基甲𨾏 (Triphenyl Formazone, TF), TF 呈现红色, 在波长 485nm 处有最大吸收峰, 采用分光光度法于 485nm 测定其吸光值, 即得土壤脱氢酶活性。

自备用品:

可见分光光度计、1ml 玻璃比色皿 (非聚苯乙烯材质)、天平、恒温培养箱或水浴锅、低温离心机、冰、蒸馏水、丙酮 (不允许快递, 请用户自备)。

样品处理:

称取 0.1g 的植物组织, 用蒸馏水清洗 3-4 次, 用滤纸吸干水, 备用。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min, 调节波长至 485nm, 丙酮调零。
2. 在 EP 管中依次加入下列试剂

试剂名称	对照管 (ml)	测定管 (ml)
样品 (g)	0.1g	0.1g
AK475-A		1
AK475-B	2	1
充分混匀, 37℃, 暗培养 3h, 取出后立即冰浴 5min, 去滤液, 尽量用滤纸吸干样本, 置于研钵/匀浆器中。		
AK475-C	1	1
充分研磨 (建议在通风橱操作) 后全部移至于离心管中, 用少量试剂 C 冲洗研钵, 一起加入离心管, 用试剂 C 容至 2mL, 10000 rpm, 4℃, 离心 5min, 取 1ml 上清至玻璃比色皿中, 测定 485nm 下的吸光值, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。 注: 每个测定管需设一个对照管。		

脱氢酶活力计算:

a. 用微量玻璃比色皿测定的计算公式如下

酶活单位定义: 在 37℃时, 每克样品每小时使每 ml 反应体系 OD 值每增加 0.01 为一个酶活单位。

脱氢酶活性 (U/g) = $\Delta A \div 0.01 \div T \div W = 333.3 \times \Delta A$

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

酶活单位定义：在 37℃时，每克样品每小时使每 ml 反应体系 OD 值每增加 0.005 为一个酶活单位。

脱氢酶活性 (U/g) = $\Delta A \div 0.005 \div T \div W = 666.6 \times \Delta A$

注：T：培养时间，3h；W：样品质量，0.1g

注意事项：

1. 配制好的 AK475-A 避光保存于 4℃，最好在一周内使用，若出现红色，则不能使用。
2. AK475-C 易挥发，有毒，为了您的健康，请穿实验服，戴口罩，戴乳胶手套操作。
3. 反应完成后立即冰浴以终止反应，并去除干净残留的反应液。
4. 如果测定出来的吸光值较大，减少样品用量再进行测定；若吸光值过小则延长培养时间，并注意同步修改计算公式。
5. 如果离心后待测的上清依然浑浊，可尝试加大离心转速或延长时间。