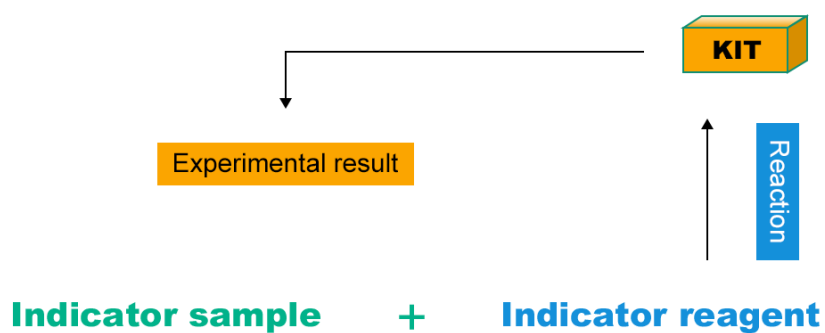


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0742

Size: 50T/24S

植物脱氢酶(pDHA) 检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

生物体的脱氢酶(Plant dehydrogenase, DHA)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。

二、测定原理:

受氢体 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(2,3,5-Triphenyl Tetrazolium Chloride, 即 TTC)在细胞呼吸过程中接受氢以后,其还原产物三苯基甲腈(TriphenylFormazone, 即 TF)呈现红色,在波长 485nm 处有最大吸收峰,测定其 485nm 吸光值,即得植物脱氢酶活性。

三、需自备的仪器和用品:

恒温培养箱或水浴锅、低温离心机、研钵、滤纸、可见分光光度计、1mL 比色皿、冰、蒸馏水和乙酸乙酯(不允许快递,请用户自备)。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	粉剂×2 瓶	4℃保存	使用前加少量水溶解,定容至 60mL,避光、4℃保存(尽量现配现用)
试剂二	液体 60mL×6	4℃保存	
试剂三	乙酸乙酯		自备

五、样品处理

称取 0.5-1g 的植物组织，用双蒸水清洗 3-4 次，用滤纸吸干水分，备用。

● 测定步骤和操作表

	对照管	测定管
样品 (g)	0.5-1	0.5-1
试剂一 (mL)		5
试剂二 (mL)	10	5
充分混匀，37℃，暗培养 3h，取出后立即冰浴 5min，过滤，去滤液，尽量用滤纸吸干样品，置于研钵中。		
试剂三 (mL)	5	5
充分研磨，吸取红色液体于离心管中，用少量试剂三冲洗研钵，一起加入离心管，用试剂三定容至 15mL，10000rpm/min，4℃，离心 5min，取上清，于 1cm 光径，蒸馏水调零，测定 OD ₄₈₅ 。		

六、脱氢酶活力计算

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

● 计算公式：

脱氢酶活性 (U/g · h) = $(OD_{485 \text{ 测定}} - OD_{485 \text{ 对照}}) \div 0.01 \div \text{样品质量 (g)} \div \text{反应时间 (h)}$

七、注意事项

1. 配制好的试剂一避光保存于 4℃，尽量在一周内使用，若出现红色，则不能使用。
2. 试剂三易挥发，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，需把样品适当稀释再进行测定。
5. 试剂盒 2-8℃ 保存。