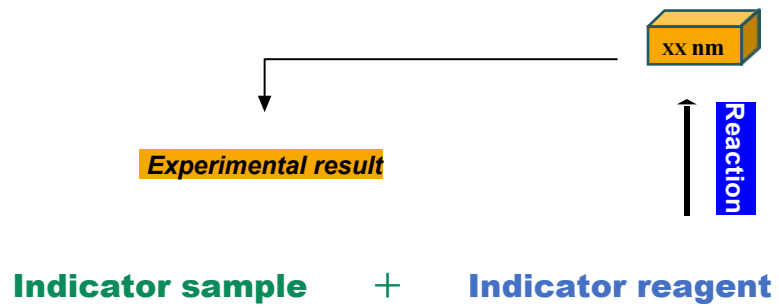


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

植物脱氢酶(SDHA)检测试剂盒说明书

微量法

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

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。

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蹼 (Triphenyl Formazone, 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。

需自备实验仪器及用品：

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/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板、冰、蒸馏水和乙酸乙酯。

试剂的组成和配制：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	粉剂×1瓶	4℃保存	使用前加少量水溶解，定容至50mL，避光（尽量现配现用）
试剂二	液体 100mL×1瓶	4℃保存	-
试剂三	乙酸乙酯	4℃保存	自备

样品处理：

称取0.1g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：

1、分光光度计/酶标仪预热30min，调节波长至485nm，蒸馏水调零。

2、操作表

	对照管	测定管
样品 (g)	0.1	0.1
试剂一 (mL)		1
试剂二 (mL)	2	1
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)	1	1
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 2mL，10000rpm，4℃，离心 5min，取上清，于微量石英比色皿/96孔板，测定485nm 处测定管和对照管吸光值。ΔA=A 测定-A 对照		

脱氢酶活力计算：

酶活单位定义：在37°C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。

$$\begin{aligned}\text{计算公式：脱氢酶活性 (U/g. h)} &= \Delta A \div 0.01 \div W \div T \\ &= 300 \times \Delta A \div W\end{aligned}$$

T：反应时间，3h；W：样品质量，g。

注意事项：

1. 配制好的试剂一避光保存于 4°C，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°C保存。