植物脱氢酶（PDHA）活性检测试剂盒说明书

微量法

货号: AC10556
规格: 100T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 100 mL×2 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 100 mL×1 瓶（自备）	2-8℃保存

溶液的配制：

1、 试剂一：使用前加少量水溶解，定容至 50 mL，避光、2-8℃保存（尽量现配现用）；

2、 试剂三：自备乙酸乙酯。提供 1 个 60mL 空瓶。

产品说明：

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。

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替（TriphenylFormazone，即TFF）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，即得植物脱氢酶活性。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

台式离心机、可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、微量玻璃比色皿/96孔板（非聚苯乙烯/聚丙烯材质）、可调式移液枪、冰、研钵/匀浆器、蒸馏水、乙酸乙酯（不允许快递，请用户自备）。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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。

二、测定步骤

1、 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至485nm，**乙酸乙酯**调零。

2、 操作表：取5mLEP管依次加入

加入试剂	对照管	测定管
样本（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，去滤液，尽量用滤纸吸干样本，置于研钵/匀浆器中。		
试剂三（mL）	1	1
充分研磨（建议在通风橱操作）后全部移至于离心管中，用少量试剂三冲洗研钵，一起加入离心管，用试剂三定容至 2mL，10000rpm/min，4℃，离心 5min，取 200μL 上清至微量玻璃比色皿或 96 孔板中，测定 485nm 下的吸光值。计算 ΔA=A 测定-A 对照。		

三、脱氢酶活力计算

A：用微量玻璃比色皿（光径，1cm）测定的计算公式如下

酶活单位定义：在37℃时，每小时每克组织样本使反应体系吸光值每增加0.01为一个酶活单位。

脱氢酶活性（U/g 质量）=ΔA÷0.01÷T÷W=33×ΔA÷W

B：用96孔板（光径，0.6cm）测定的计算公式如下

酶活单位定义：在37℃时，每小时每克组织样本使反应体系吸光值每增加0.005为一个酶活单位。

脱氢酶活性（U/g 质量）=ΔA÷0.005÷T÷W=66.7×ΔA÷W

T：反应时间，3h；W：样本质量，g。

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，需把样本适当稀释再进行测定，注意计算公式乘以稀释倍数。

5、 如果用96孔板进行检测，建议不要使用聚苯乙烯/聚丙烯材质的96孔板。

实验实例：

1. 称取1g芦荟叶片，用双蒸水清洗3-4次，用滤纸吸干水分，按照测定步骤进行操作，用96孔板测得计算ΔA=A测定-A对照=0.244-0.146=0.098，计算酶活得：

脱氢酶活性（U/g 质量）=66.7×ΔA÷W=6.5366 U/g 质量。

相关系列产品：

AC10377/AC10378 异柠檬酸裂解酶（ICL）活性检测检测试剂盒

AC10561/AC10562 乙酸激酶（ACK）活性检测试剂盒

AC10373/AC10374 乙醇酸氧化酶（GO）活性检测试剂盒