

植物脱氢酶（PDHA）活性检测试剂盒说明书

微量法

货号: BC3125

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，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

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。提供一 60mL 棕色试剂瓶。

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臜（Triphenyl Formazone，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。

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（>98%，AR）。

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，用蒸馏水清洗 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 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。		





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）= $\Delta A \div 0.01 \div T \div W = 33 \times \Delta A \div W$

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）= $\Delta A \div 0.005 \div T \div W = 66.7 \times \Delta A \div W$

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 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.244 - 0.146 = 0.098$ ，计算酶活得：
脱氢酶活性（U/g 质量）= $66.7 \times \Delta A \div W = 6.5366 \text{ U/g 质量}$ 。

相关发表文献：

- [1] Wang Z, Yu S, Nie Y, Liu R, Zhu W, Zhou Z, Ma Y, Diao J. Effect of acetochlor on the symbiotic relationship between microalgae and bacteria. J Hazard Mater. 2024 Feb 5;463:132848. doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.132848. Epub 2023 Oct 24. PMID: 37924702.
- [2] Guan TK, Wang QY, Li JS, Yan HW, Chen QJ, Sun J, Liu CJ, Han YY, Zou YJ, Zhang GQ. Biochar immobilized plant growth-promoting rhizobacteria enhanced the physicochemical properties, agronomic characters and microbial communities during lettuce seedling. Front Microbiol. 2023 Jul 5;14:1218205. doi: 10.3389/fmicb.2023.1218205. PMID: 37476665; PMCID: PMC10354297.
- [3] Liao G, Chen L, He Y, Li X, Lv Z, Yi S, Zhong M, Huang C, Jia D, Qu X, Xu X. Three metabolic pathways are responsible for the accumulation and maintenance of high AsA content in kiwifruit (Actinidia eriantha). BMC Genomics. 2021 Jan 6;22(1):13. doi: 10.1186/s12864-020-07311-5. PMID: 33407094; PMCID: PMC7788711.

相关系列产品：

- BC2030/BC2035 异柠檬酸裂解酶（ICL）活性检测试剂盒
- BC3170/BC3175 乙酸激酶（ACK）活性检测试剂盒
- BC2010/BC2015 乙醇酸氧化酶（GO）活性检测试剂盒

