

植物根系活力试剂盒说明书

(货号: BP10461W 微板法 96 样 有效期: 6 个月)

一、指标介绍:

植物根系的测定, 传统方法是用氯化三苯基四氮唑 (TTC) 作为脱氢酶的氢受体, 但生成的有色物质甲臜是不溶于水以至操作麻烦, 且灵敏度低; 本试剂盒提供一种简单, 灵敏, 快速的测定方法, 利用改性的氮四唑盐作为氢受体, 其生成的有色甲臜物质易溶于水, 于 460nm 测定其吸光值, 即得脱氢酶活性。

二、试剂盒组分与配制:

试剂组分	试剂规格	存放温度
试剂一	液体 1.1mL×2 支	4°C避光保存
试剂二	液体 34mL×1 瓶	4°C保存

三、实验器材:

研钵 (匀浆机)、冰盒 (制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅 (烘箱、培养箱、金属浴)、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水 (去离子水、超纯水均可)。

四、指标测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本 (例如不同类型或分组) 进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1、样本提取:

先用蒸馏水把根系 (尤其是带泥巴的根系) 冲洗干净, 再用吸水纸吸干水分, 称约 0.03g 根系组织, 可预先用剪刀剪成小段, 放入 EP 管后按照加样表操作 (确保根系样本完全被试剂浸没)。

2、检测步骤:

① 酶标仪预热 30min 以上 (等仪器过自检程序亦可), 调节波长至 460nm。

② 在 EP 管中依次加入:

试剂组分 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本 (g)	0.03g	
试剂一	20	20
试剂二	340	340
充分混匀, 37°C避光培养 3h, 立即于室温 (25°C) 10000rpm, 离心 10min, 取出 200μL 上清液至 96 孔板中, 于 460nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

【注】1. 随着反应的进行, 液体会呈现黄色现象, 酶活性越大, 颜色越深。

2. 若 ΔA 差值在零附近徘徊, 可以加大样本取样量 (如增至 0.08g), 或延长避光培养时间 (如增至 6 h 或更长), 则改变后的样本 W 和反应时间 T 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算:

1、按照样本质量计算:

酶活单位定义: 在 37°C 时, 每克样本每小时催化产生 1μg 甲臜物质为一个酶活单位。

根系活力 (μg/h/g 鲜重) = $(\Delta A \div \epsilon \div d \times V \times 10^6 \times Mr) \div W \div T = 4.83 \times \Delta A \div W$

ϵ ---甲臜物质的摩尔消光系数, 3.1×10^4 L/mol/cm;

d---光径, 0.5cm;

V---反应体系总体积, $360\mu\text{L} = 3.6 \times 10^{-4}$ L;

T---培养时间, 3h;

W---样品质量, g;

Mr---甲胍物质的分子量, 624.47;