

植物脱氢酶(PDHA)活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHD8-M48	植物脱氢酶(PDHA)活性检测试剂盒	48T	微量法
PYHD8-M96		96T	

一、测定意义

植物脱氢酶（PDHA）属于氧化还原酶系，能够使有机物的氢原子活化并传递给特定的氢受体，实现有机物的氧化和转化，其活性在很大程度上反映了生物体的活性状态，可以作为评判生物细胞对基质降解能力的重要指标。

二、测定原理

氢受体 2,3,5-氯化三苯基四氮唑（TTC）在细胞呼吸过程中受氢，生成红色三苯基甲胍（TF），产物在 485 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征植物脱氢酶的活性。

三、试剂组成

试剂名称	试剂装量（48T）	试剂装量（96T）	保存条件
试剂一	液体 50 mL×3 瓶	液体 100 mL×3 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8℃避光保存
试剂二的配制：使用前每瓶加入 60 mL 蒸馏水充分溶解（配制后 4℃可保存 1 周，若出现红色则停止使用）。			

四、操作步骤

一、样本预处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

称取 0.2 g 植物组织，蒸馏水清洗 3-5 次，滤纸吸干水分后待测。

二、测定步骤

1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 485nm，乙酸乙酯（自备）调零；

2、操作表（在离心管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管
待测样本（mg）	100	100
试剂一（mL）	1	2
试剂二（mL）	1	-
充分混匀，37℃避光培养 3 h，立即冰浴 5 min 将植物组织取出后使用滤纸充分吸干，置于研钵/匀浆器中。		
乙酸乙酯（mL）	1	1

充分研磨至匀浆，转移至离心管内，乙酸乙酯定容至 2 mL 充分混匀，4℃ 10000 g 离心 5 min，吸取 200 μL 上清液至 96 孔板中，测定 485 nm 处吸光值，记为 $A_{\text{测定}}$ 和 $A_{\text{对照}}$ ，计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。注：每个样品均需设一个对照管。

五、植物脱氢酶（PDHA）活性计算：

单位定义：37℃条件下，每小时每克植物样本使每 mL 反应体系吸光值增加 0.01 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PDHA (U/g)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div 0.005 \div W \div T = 133.33 \times \Delta A \div W$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，2 mL；W：样品质量，g；T：反应时间，3 h。

六、注意事项：

- 1、反应完成后立即冰浴以终止反应，并将残留的反应液完全去除；
- 2、乙酸乙酯易挥发，建议在通风橱中进行操作，并做好防护措施；
- 3、为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。