脱氢酶（dehydrogenase, DHA）试剂盒说明书

微量法 100 管/96 样

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

测定意义

脱氢酶(dehydrogenase, DHA) 是一类催化物质氧化还原反应的酶，催化底物通过细胞色素系统被氧化，释放的能量供机体使用，是生物体取得能量的一种方式。

测定原理

在细胞呼吸过程中，氢受体 2, 3, 5 - 氯化三苯基四氮唑（2,3,5-Triphenyl Tetrazolium Chloride, TTC）在脱氢酶作用下接受氢以后，被还原为三苯基甲鎓（Triphenyl Formazone, TF），TF 呈现红色，于 485nm 测定其吸光值，即得脱氢酶活性。

自备实验仪器及用品

天平、恒温培养箱或水浴锅、低温离心机、酶标仪、96 孔板、冰、蒸馏水、甲醇（不允许快递，请用户自备）。

试剂的组成和配制

试剂一：液体 105mL×1 瓶，4℃保存。

试剂二：粉剂×2 瓶，4℃避光保存，临用前每瓶加入 55mL 蒸馏水溶解（现配现用）。

试剂三：液体 50mL×1 瓶，4℃保存。

试剂四：甲醇，自备。

Lifemall.asia To be with you

样品处理

取新鲜根系样本，洗净后称取 0.1g，放入 10mL 离心管中。

测定步骤和操作表

	空白管	测定管
样品（g）		0.1
试剂一（mL）	1	1
试剂二（mL）	1	1
充分混匀，37℃避光培养 2h		
试剂三（mL）	0.4	0.4
混匀，然后取出根样，吸干样本表面水分，放入新的离心管		
甲醇（mL）	2	2
40℃浸泡 2h，若样本仍带红色则继续浸泡至样本完全变白，取 200μL 于96 孔板，测定 A_{485}， △A=A 测定-A 空白。		

脱氢酶活力计算

标准曲线：y = 0.0211x - 0.0312；R^2 = 0.9988；x 为标准品浓度（μg/mL），y 为吸光值。

酶活单位定义：在 37℃时，每克样品每 min 催化产生 1μgTF 为一个酶活性单位。

DHA（μg/ min /g 鲜重）=（△A+0.0312）÷ 0.0211×V 反总÷W÷T= 0.789×（△A+0.0312）÷W

V 反总：反应总体积，2mL；T：培养时间，120min；W：样品质量，g。

Lifemall.asia
To be with you