

植物根系活力试剂盒说明书

(货号: G0124W 微板法 96 样)

一、产品简介:

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:

试剂名称	规格	保存要求
试剂一	液体 1.1mL×2 支	4℃保存
试剂二	液体 34mL×1 瓶	4℃保存

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96孔板、天平、恒温培养箱或水浴锅、可调式移液器、离心机。

四、植物根系活力测定:

建议正式实验前选取2个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

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、上机检测:

① 酶标仪预热30min以上,调节波长至460nm。

② 在EP管中依次加入:

试剂名称(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℃避光培养3h,立即于室温(25℃)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6h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℃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, 360μL = 3.6×10^{-4} L;

T---培养时间, 3h;

W---样品质量, g;

Mr---甲臜物质的分子量, 624.47;