

植物根系活力试剂盒说明书

(货号：ADS-W-QT026-48 微板法 48 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×1 支	4℃避光保存
试剂二	液体 18mL×1 瓶	4℃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℃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 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℃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---甲胍物质的分子量, 624.47;

