

脱氢酶（dehydrogenase, DHA）试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 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, 被还原为三苯基甲蹼 (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、可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、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 60mL×1 瓶, 4℃ 保存。

试剂二：粉剂×2 瓶, 4℃ 避光保存, 临用前每瓶加入 30mL 蒸馏水溶解（现配现用）。

试剂三：液体 25mL×1 瓶, 4℃ 保存。

试剂四：甲醇, 自备。

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 1mL 于 1mL 玻璃比色皿, 测定 A ₄₈₅ , $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

脱氢酶活力计算

标准曲线: $y = 0.0422x - 0.0312$; $R^2 = 0.9988$; x 为标准品浓度 ($\mu\text{g/mL}$), y 为吸光值。

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

$\text{DHA} (\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = (\Delta A + 0.0312) \div 0.0422 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 0.395 \times (\Delta A + 0.0312) \div W$
 $V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 2mL; T: 培养时间, 120min; W: 样品质量, g。

订购电话: 0512-62956165 技术支持: 18015581827 投诉电话: 18112525205