

CheKine™ 脱氢抗坏血酸 (DHA) 含量检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB3090

规格: 96 T/96 S

批号: 见产品标签

	检测范围: 0.01-5 $\mu\text{mol/mL}$		灵敏度: 0.01 $\mu\text{mol/mL}$
	适用样本: 植物组织		
	保质期: -20°C避光保存 6 个月		

01 背景与原理

抗坏血酸 (Ascorbic Acid, AsA) 作为植物细胞一个重要生理指标, 其含量、氧化还原状态 (AsA/DHA 比率) 以及合成与代谢相关酶类活性的变化, 涉及植物对一系列环境胁迫的响应。脱氢抗坏血酸 (DHA) 是 AsA 的可逆氧化形态, 在生物体内与抗坏血酸共同构成氧化还原系统, 起到电子受体的作用。

本试剂盒检测原理是还原剂二硫苏糖醇 (DTT) 特异性地将样本中待测的 DHA 完全还原为 AsA, 通过测定体系中 AsA 的生成速率, 即可计算出 DHA 含量。

02 包装清单

试剂盒组分	规格	储存要求
	96 T	
Extraction Buffer	120 mL	4°C
Reagent I	20 mL	4°C
Reagent II	Powder×1 vial	-20°C, 避光保存
Standard	Powder×1 vial	-20°C, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 265 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	UV 板
试剂	去离子水	试剂配制
其他	匀浆器（组织样本）、低温离心机、恒温水浴锅、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本公司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Working Reagent II	临用前配制；加入 5 mL 去离子水充分溶解待用	分装后-20℃避光保存 1 个月，禁止反复冻融
1 μmol/mL Standard	临用前配制，加入 5.743 mL 去离子水充分溶解，即为 1 μmol/mL DHA	分装后-20℃避光保存 1 个月，禁止反复冻融

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

- 植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer 捣碎后进行冰浴超声破碎。超声波破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），16000 g，4℃离心 20 min，取上清置于冰上待测。

05-3 实验步骤

注意：因是根据反应速率计算含量，为保证每个样本的反应时间尽量一致，不推荐同时检测过多样本。

- 1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 265 nm。
- 2. 检测体系配制：Reagent I 置于 25℃ 孵育 30 min。在 96 孔 UV 板中按照如下方式操作：

试剂	测定孔 (μL)	标准孔 (μL)
样本	20	0
Reagent I	160	160
Working Reagent II	20	20
1 μmol/mL Standard	0	20

- 3. 吸光度检测：迅速混匀，立即测定 265 nm 处第 10 s 时吸光值为 A₁，记录第 2 min 10 s 时吸光值为 A₂。测定孔记为 A_{测定}，标准孔记为 A_{标准}。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ ， $\Delta A_{测定} = A_{2测定} - A_{1测定}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{2标准} - A_{1标准}$

2. 样本 DHA 含量计算

- 按样本蛋白浓度计算：

$$DHA(nmol/mg\ prot)=(C_{标准} \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准}) \div Cpr \times n = 1000 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div Cpr \times n$$

- 按样本鲜重计算：

$$DHA(nmol/g)=(C_{标准} \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准}) \times V_{样总} \div W \times n = 1000 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W \times n$$

C_{Standard}: DHA 浓度，1 μmol/mL=1000 nmol/mL；V_{样总}: 加入 Extraction Buffer 体积，1 mL；Cpr: 样本蛋白质浓度，mg/mL；W: 样品质量，g；n: 稀释倍数。

07 结果展示

示例-1: 取 0.1 g 拟南芥叶，按照测定步骤操作，用 96 孔 UV 板进行检测。测得 $\Delta A_{标准} = A_{2标准} - A_{1标准} = 0.289 - 0.095 = 0.194$ ， $\Delta A_{测定} = A_{2测定} - A_{1测定} = 0.355 - 0.351 = 0.004$ 。按样本质量计算得：DHA (nmol/g)= $1000 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W \times n = 206.19\ nmol/g$ 。

示例-2: 取 0.1 g 水稻，按照测定步骤操作，用 96 孔 UV 板进行检测。测得 $\Delta A_{标准} = A_{2标准} - A_{1标准} = 0.289 - 0.095 = 0.194$ ， $\Delta A_{测定} = A_{2测定} - A_{1测定} = 0.265 - 0.262 = 0.003$ 。按样本质量计算得：DHA (nmol/g)= $1000 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W \times n = 154.64\ nmol/g$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办？

如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.001 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 1，样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释，结果乘以稀释倍数或减少提取用样本量，再重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1110	CheKine™ 乳酸脱氢酶（LDH）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1300	CheKine™ 葡萄糖含量检测试剂盒（微量法）
KTB1100	CheKine™ 乳酸检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 脱氢抗坏血酸（DHA）含量检测流程示意图

(Abbking 货号：KTB3090)

样本处理



植物组织

1 mL Extraction Buffer 捣碎后冰浴超声破碎5 min
(功率20%或200 W, 超声3 s, 间隔7 s, 重复30次)



16000 g, 4℃离心20 min, 取上清



体系配置

标准品配制



测定孔

样本 20 μL
Reagent I 160 μL
Working Reagent II 20 μL

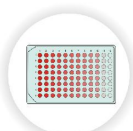


标准孔

Reagent I 160 μL
Working Reagent II 20 μL
Working Standard 20 μL

迅速混匀

数据检测



测定10 s和2 min 10 s时265 nm吸光度
结果计算