

CheKine™ 植物根系活力检测试剂盒（TTC 法）（微量法）

货号: KTB3025

规格: 48 T/24 S

96 T/48 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 植物根系组织
	保质期: 4℃, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

生物体的脱氢酶（Plant dehydrogenase, PDHA）的活性在很大程度上反映了生物体的活性状态，能直接表示生物细胞对其基质降解能力的强弱。

本试剂盒检测原理是受氢体 2,3,5-氯化三苯基四氮唑（2,3,5-Triphenyl Tetrazolium Chloride, 即 TTC）在细胞呼吸过程中接受氢以后，其还原产物三苯基甲腈（Triphenyl Formazan, 即 TFF）呈现红色，在波长 485 nm 处有最大吸收峰，采用分光光度法于 485 nm 测定其吸光值，即得植物脱氢酶活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I A	Powder×1 vial	Powder×2 vials	4℃, 避光保存
Reagent I B	Powder×1 vial	Powder×2 vials	4℃
Reagent II	110 mL	110 mL×2	4℃
Reagent III	Powder×2 vials	Powder×4 vials	4℃
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃, 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 485 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	石英板/玻璃板（非聚苯乙烯/聚丙烯材质）
试剂	去离子水、乙酸乙酯	试剂配制、清洗样本/实验检测用
其他	匀浆器、水浴锅、低温离心机、可调节式移液枪及枪头、滤纸	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。
- 反应完成后立即冰浴以终止反应，并将残留的反应液尽量去除干净。
- 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
Working Reagent I	临用前配制；取一支 Reagent I B 加入一支 Reagent I A，再加入 60 mL 去离子水，充分溶解待用	4℃避光保存 1 周，若出现红色则不能使用
Reagent II	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent III	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent IV	自备乙酸乙酯	室温保存；该试剂易挥发，有毒，与有关的反应，请穿实验服，戴口罩，戴乳胶手套，在通风橱中操作
20 µg/mL TTC Standard 工作液	临用前配制；加入 1 mL 去离子水充分溶解，配制成 10 mg/mL TTC Standard。取 10 µL 10 mg/mL TTC Standard，加入 1990 µL 去离子水，充分混匀，制成 50 µg/mL TTC Standard。再取 1 mL 50 µg/mL TTC Standard 加入到一支 Reagent III 内，充分震荡混匀 2 min。混匀后加入 1 mL Reagent IV，再次充分震荡混匀 2 min，室温静置分层 5 min，取上层溶液，即为 50 µg/mL TTC Standard 工作液。吸取 200 µL 50 µg/mL TTC Standard 工作液加入 300 µL Reagent IV 混匀即 20 µg/mL TTC Standard 工作液。	10 mg/mL TTC Standard 4℃避光保存 1 周，若出现红色则不能使用。20 µg/mL TTC Standard 工作液现用现配。使用 20 µg/mL TTC Standard 工作液进行后续实验检测

05-2 样本制备

注意：使用新鲜根系样本检测植物根系活力，不能把样本冷冻后使用。建议用新鲜无色根系样本检测植物根系活力。对于有色根系样本，可以在加 **Reagent IV** 之前，先用去离子水进行研磨，12000 g，4℃，离心 5 min 弃掉上清，沉淀加 **Reagent IV** 研磨，收集研磨液，按照实验步骤离心取上清检测。

- 植物根系组织：称取约 0.1 g 新鲜样本（建议使用无色根系样本），用去离子水清洗 3-4 次，轻轻擦干，不要过分挤压破坏根系细胞。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 485 nm。
2. 标准溶液的测定：分别取 200 μL 20μg/mL TTC Standard 工作液和 200 μL Reagent IV 至 96 孔石英板/玻璃板（非聚苯乙烯/聚丙烯材质）中，测定 485 nm 下的吸光值。标准孔记为 $A_{\text{标准}}$ ，Reagent IV 孔记为 $A_{\text{空白}}$ ，标准管和空白管只需做 1-2 次。
3. 检测体系配制：在 5 mL EP 管中按照如下方式操作：

试剂	测定管	对照管
样本 (g)	0.1	0.1
Working Reagent I (mL)	1	0
Reagent II (mL)	1	2
充分混匀，37℃，暗培养 4 h，取出后立即冰浴 5 min，去滤液，尽量用滤纸吸干样本，置于匀浆器或研钵中		
Reagent IV (mL)	1	1

4. 充分研磨，12000 g，4℃ 离心 5 min。
5. 吸光度检测：取 200 μL 上清至 96 孔石英板/玻璃板（非聚苯乙烯/聚丙烯材质）中，于 485 nm 处测定吸光值，分别记为 $A_{\text{测定}}$ 和 $A_{\text{对照}}$ 。

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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

2. 植物根系活力的计算：

- 按样本鲜重计算：

单位的定义：以 TTC 的还原量来表示根系活力。

TTC 还原强度 [$\mu\text{g TTC}/(\text{g} \cdot \text{h})$] = $\Delta A_{\text{测定}} \times C_{\text{标准}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V \div (W \times T) = 5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$

$C_{\text{标准}}$ ：标准溶液浓度，20 μg/mL；W：根重，g；T：反应时间，4 h；V：Reagent IV 的体积即匀浆体积，1 mL。

07 结果展示

示例-1: 取 0.122 g 桑树根系, 按照测定步骤操作, 用 96 孔石英板/玻璃板 (非聚苯乙烯/聚丙烯材质) 进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.733 - 0.053 = 0.68$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.482 - 0.041 = 0.441$ 。按样本鲜重计算得: $\text{TTC 还原强度} [\mu\text{g TTC}/(\text{g} \cdot \text{h})] = \Delta A_{\text{测定}} \times C_{\text{标准}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V \div (W \times T) = 5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 63.19 \mu\text{g TTC}/(\text{g} \cdot \text{h})$ 。

08 FAQ

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

如果样本 $\Delta A_{\text{测定}} > 1$, 样本上清液可用 Reagent IV 进一步稀释或减少样本量, 重新进行测定。如果样本的 $\Delta A_{\text{测定}} < 0.01$, 可适当提高样本量。

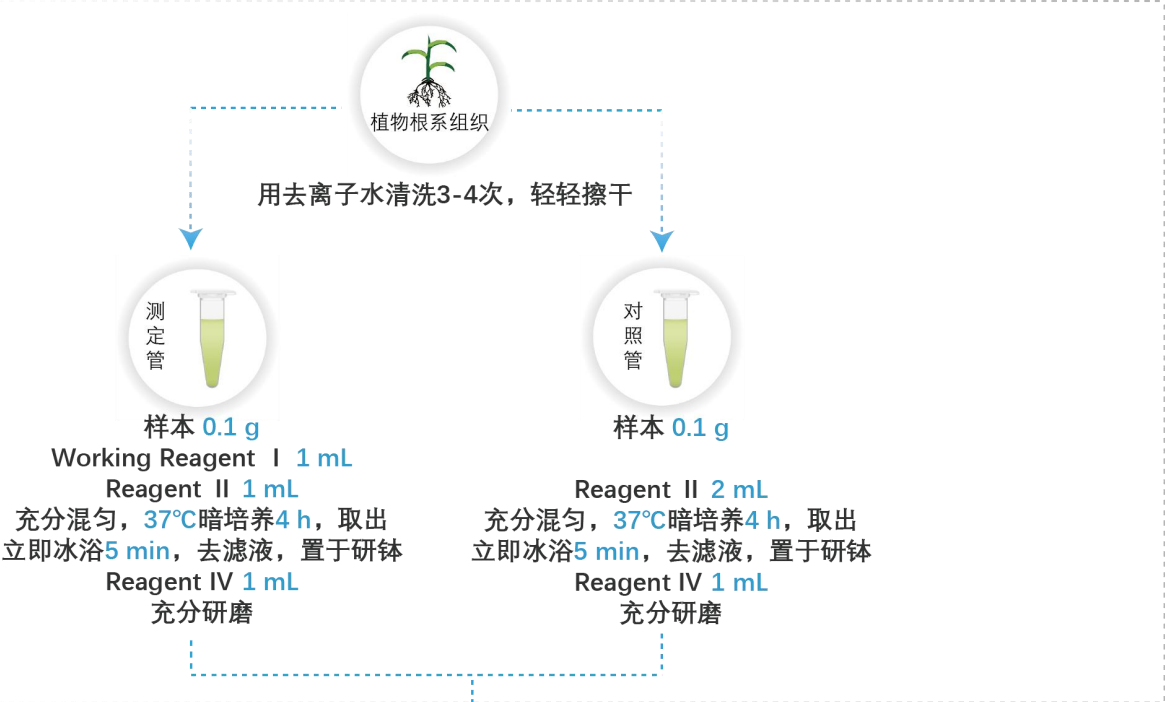
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1127	CheKine™ 乙酸激酶 (ACK) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1023	CheKine™ 柠檬酸合酶 (CS) 活性检测试剂盒 (微量法)

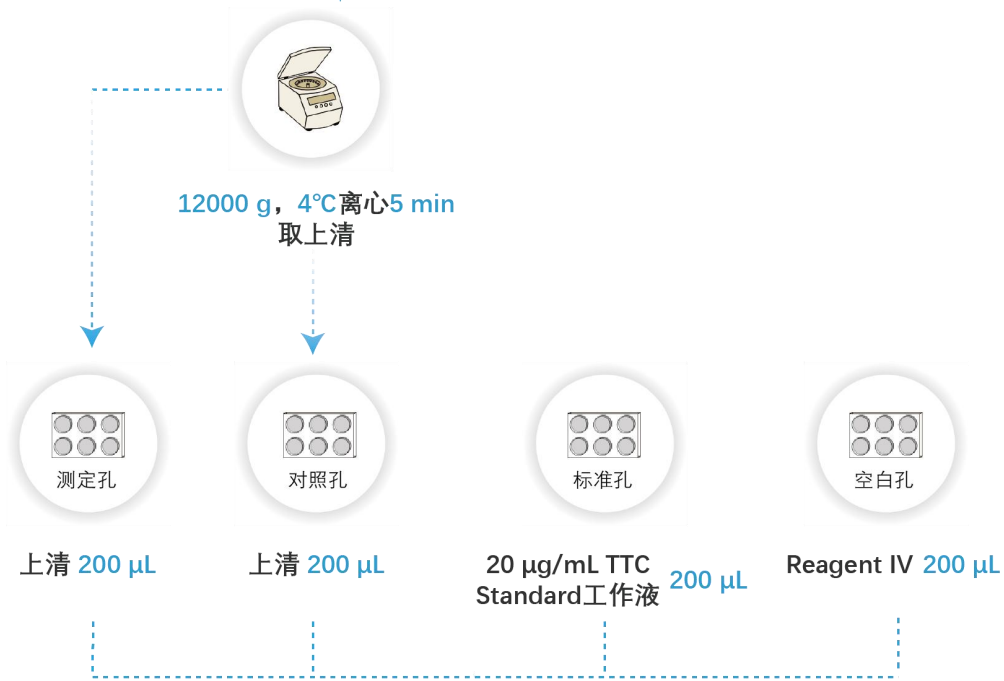
CheKine™ 植物根系活力检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB3025)

样本处理



体系配置



数据检测

