

CheKine™ 脯氨酸脱氢酶 (ProDH) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB1431

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动植物组织、细菌和细胞
	保质期: -20℃, 避光保存 12 个月

01 背景与原理

脯氨酸脱氢酶 (Proline dehydrogenase, ProDH) (EC 1.5.5.2) 是存在于线粒体内的催化脯氨酸降解的关键酶。降低 ProDH 活性对于调节渗透平衡、防止渗透胁迫对植物造成伤害、清除自由基、保护细胞结构具有重要意义。

本试剂盒检测原理是 ProDH 催化脯氨酸脱氢, 脱出的氢经电子载体传递, 将氧化型 2,6-二氯酚靛酚 (DCPIP) 还原为还原型 DCPIP。氧化型 DCPIP 在 600 nm 处具有特征吸收峰, 随着还原反应的进行, 该波长下吸光度值呈下降趋势, 通过 600 nm 吸光度的下降速率表征 ProDH 活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	60 mL×2	4℃
Reagent I	1 mL	2 mL	4℃, 避光保存
Reagent II	1 mL	2 mL	4℃, 避光保存
Reagent III	10 mL	10 mL×2	-20℃, 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 600 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
其他	匀浆器或研钵（组织样本）、水浴锅、低温离心机、 可调式移液枪及枪头	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

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型	实验过程中冰上放置；4℃保存
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存
Reagent II	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存
Reagent III	即用型；使用前平衡到室温	-20℃避光保存

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本。样本尽量新鲜提取，如果不能当天提取，则把完整细胞或者分装的组织块保存在-80℃，一个月内使用。当准备好进行该项实验时，将样本从-80℃拿出后，冰上解冻。但是请注意，这可能会影响样本的稳定性，实验结果可能会低于预期。

- 动植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，1500 g，4℃离心 15 min，取上清液于一支新的离心管中，加入一滴 Reagent I（用 10 μL 的枪头加入），涡旋混匀，冰浴放置 30 min 后，16000 g，4℃离心 20 min，取上清液，置冰上待测。
- 细胞或细菌：收集 5x10⁶ 个细菌或细胞到离心管内，用冷 PBS 清洗细菌或细胞，离心后弃上清，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴超声破碎 5min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7s，重复 30 次），然后 1500 g，4℃离心 15 min，于一支新的离心管中，加入一滴 Reagent I（用 10 μL 的枪头加入），涡旋混匀，冰浴放置 30 min 后，16000 g，4℃离心 20 min，取上清液，置冰上待测。

05-3 实验步骤

注：检测量大时，建议使用多通道移液器操作以提高加样速度

- 1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 600 nm。
- 2. Working Reagent 的配制：临用前配制，需现用现配，避光保存。对于 96 孔板，每孔配制 150 μL 工作液。吸取 15μL Reagent II 和 135 μL Reagent III 充分混匀（配制体积比 1：9）。
- 3. 检测体系配制：在 96 孔板中按照如下方式操作

试剂	测定孔 (μL)
样本	35
Working Reagent	150

- 4. 吸光度检测：加入 Working Reagent 后，立即混匀测定 600 nm 处 0min 时的吸光值和室温 (25℃) 放置 5 min 后吸光值，分别记录为 A₁和 A₂。

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 $\Delta A=A_1-A_2$

2. 样本 ProDH 活性计算

- 按样本质量计算

酶活单位定义：每分钟每 g 组织在每 mL 反应体系中使 600 nm 处吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ProDH(U/g)}=\Delta A\times V_{\text{反总}}\div(W\times V_{\text{样}}\div V_{\text{样总}})\div0.005\div T=211.43\times\Delta A\div W$$

- 按细胞或细菌数量计算：

酶活单位定义：每分钟每 10⁴ 细菌或细胞在每 mL 反应体系中使 600 nm 处吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ProDH(U/10}^4\text{)}=\Delta A\times V_{\text{反总}}\div(N\times V_{\text{样}}\div V_{\text{样总}})\div0.005\div T=211.43\times\Delta A\div N$$

- 按蛋白浓度计算

酶活单位定义：每分钟每 mg 组织蛋白在每 mL 反应体系中使 600 nm 处吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ProDH(U/mg prot)}=\Delta A\times V_{\text{反总}}\div(V_{\text{样}}\times\text{Cpr})\div0.005\div T=211.43\times\Delta A\div\text{Cpr}$$

V_{反总}：反应体系总体积，0.185 mL；V_样：加入的样本体积，0.035 mL；V_{样总}：提取液体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间，5 min；N：细胞或细菌数量，以 10⁴ 为单位（例如细胞数量为 5×10⁶，N=500）；W：样本质量，g。

07 结果展示

示例-1：取 0.1 g 小鼠肝脏，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A=A_1-A_2=1.303-0.974=0.329$ 。按样本质量计算得：ProDH(U/g)=211.43×ΔA÷W=695.6047 U/g。

08 FAQ

● 检测得到的样本ΔA 过高或者过低怎么办？

如果ΔA 小于 0.1 可适当加大样本量。如果ΔA 大于 1.5，样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释，或减少提取用样本量，再重新进行测定。

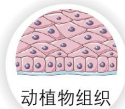
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1430	CheKine™ 脯氨酸（PRO）含量检测试剂盒（微量法）
KTB1410	CheKine™ 谷丙转氨酶（ALT/GPT）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1420	CheKine™ 谷草转氨酶（AST/GOT）活性检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 脯氨酸脱氢酶（ProDH）活性检测流程示意图

(Abbkine 货号：KTB1431)

样本处理



动植物组织

称取约0.1 g样本，加入1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆



细胞样本



细菌样本

收集清洗的细胞或细菌
1 mL Extraction Buffer
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）



1500 g，4℃离心15 min，取上清



加入一滴Reagent I（用10 μL的枪头加入），涡旋混匀，冰浴放置30 min



16000 g，4℃离心20 min，取上清

体系配置

Working Reagent：每孔150 μL
Reagent II 15 μL
Reagent III 135 μL

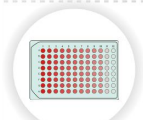


测定孔

样本 35 μL
Working Reagent 150 μL

立即混匀，测定600nm处初始吸光度A1

数据检测



室温（25℃）放置5 min后，测定600 nm处的吸光度A2
结果计算