



脯氨酸脱氢酶活性检测试剂盒 ProDH Assay Kit

微量法

产品编号: AK387M
产品规格: 100T/96S
产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES387	100mL×1 瓶	4℃保存;
AK387-A	2 mL×1 支	4℃保存;
AK387-B	25mL×1 瓶	-20℃保存;
AK387-C	粉剂×1 瓶	4℃保存; 临用前加入 4mL 蒸馏水充分溶解待用, 剩余试剂 4℃保存;
AK387-D	粉剂×1 瓶	4℃保存; 临用前加入 4mL 蒸馏水充分溶解待用, 剩余试剂 4℃保存;
AK387-E	粉剂×4 支	4℃保存; 临用前取一支加入 1mL 蒸馏水充分溶解待用, 现配现用。
工作液配制	临用前根据用量按照体积比 (mL): AK387-B : AK387-C : AK387-D = 7.2 : 0.9 : 0.9 的比例充分混匀。(注意: 现配现用, 用多少配多少), 置于 30℃水浴 5min;	

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 脯氨酸脱氢酶 (Proline dehydrogenase, ProDH) 是存在于线粒体内的催化脯氨酸降解的关键酶。脯氨酸是分布最广泛的一种渗透物质, 在胁迫条件下很多植物可以通过增加合成、减少降解而在体内累积大量脯氨酸, 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。

原理: 利用异硫氰酸甲酯检测 ProDH 催化的脱氢反应, 600nm 处吸光值的吸光值的变化反映酶活性的高低。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

粗酶液提取:

1. 细菌、细胞样品的制备:

细菌或培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 (10^4 个): ES387 体积 (mL) 为 1500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL ES387), 冰浴匀浆, 1500g 4℃离心 15min, 取上清液于一支新的 EP 管中, 加入 10 μ L AK387-A, 涡旋混匀, 冰浴放置 30min 后, 15000g 4℃离心 20min, 取上清置冰上待测。

2. 按照组织质量 (g): ES387 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 样本, 加入 1mL ES387), 进行冰浴匀浆, 1500g 4℃离心 15min, 取上清液于一支新的 EP 管中, 加入一滴 AK387-A (用 10 μ L 的枪头加入), 涡旋混匀, 冰浴放置 30min 后, 16000g 4℃离心 20min, 取上清置冰上待测。

测定步骤:

- 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 600nm, 蒸馏水调零。
- 样本测定 (在微量石英比色皿或 96 孔板中加入下列试剂)

试剂名称	空白管 (μ L)
样本	35
AK387-E	15
工作液	150
混匀, 立即记录 600nm 处初始吸光值 A1 和 10min 后的吸光值 A2, 计算 $\Delta A = A2 - A1$	

ProDH 活力单位的计算：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每分钟每 mg 组织蛋白在每 mL 反应体系中使 600nm 处吸光值变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{ProDH (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div 0.01 \div T = 57.14 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按样本鲜重计算：

单位定义：每分钟每 g 组织在每 mL 反应体系中使 600nm 处吸光值变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{ProDH (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T = 57.14 \times \Delta A \div W$$

注：V 反总：反应体系总体积，0.2mL；V 样：加入样本体积，0.035mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，10 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 按样本蛋白浓度计算

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

$$\text{ProDH (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div 0.005 \div T = 114.29 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按样本鲜重计算：

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

$$\text{ProDH (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.005 \div T = 114.29 \times \Delta A \div W$$

注：V 反总：反应体系总体积，0.2mL；V 样：加入样本体积，0.035mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，10 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))