植物根系活力检测试剂盒(TTC 比色法)

产品简介:

植物根系是活跃的吸收器官和合成器官,根的生长情况和代谢水平即根系活力将直接影响植物地上部分的生长和营养状况以及最终产量,是植物生长的重要生理指标之一,TTC(2,3,5-氯化三苯基四氮唑)是一种氧化还原物质,是标准氧化电位为 80mV 的氧化还原色素,溶解于水为无色,但还原后即生成红色而不溶于水的三苯基甲腙(TTF),TTF 比较稳定,不会被空气中的氧自动氧化,所以 TTC 常被用作酶试验的氢受体。

植物根系活力检测试剂盒(TTC 比色法),又称作植物根系脱氢酶活性检测试剂盒,其检测原理是当测定植物根系活力时,以 TTC 为底物,保温 1~4 小时,根系中脱氢酶能够还原 TTC 并生成不溶于水的红色 TTF,再用有机溶剂(乙酸乙酯或丙酮等)将其从根中提取出来,用分光光度计或酶标仪检测 485nm 处吸光度,进而计算出 TTC 的还原量,以该还原量表示脱氢酶活性,并作为植物根系活力的指标,该试剂盒主要用于定量测定植物的根系活力或脱氢酶活性。该试剂盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	GCTP1023 50T	Storage
试剂(A): TTC	1g	RT 避光
试剂(B): TTC Assay Buffer	250ml	RT
试剂(C): TTC 终止液	100ml	RT
试剂(D): $Na_2S_2O_4$ 粉末	0.5g	RT
使用说明书	1 份	

自备材料:

1、蒸馏水、乙酸乙酯或丙酮

2、精密天平、离心管、容量瓶、滤纸、水浴锅、研钵或匀浆器、分光光度计、比色杯

操作步骤(仅供参考):

1、配制 TTC 溶液(0.4%):称取 0.4g TTC 完全溶解于 100ml 蒸馏水即成,配制成溶液后应 4℃避光保存,若变红应弃用。

2、配制 TTC Assay Buffer 工作液:将 TTC 溶液(0.4%)与 TTC Assay Buffer 等比例混合即成,建议现用现配,4℃避光保存,若变红应弃用。

3、配制 TTF 标准工作液: 取 0.25ml TTC 溶液(0.4%)置于 10ml 离心管或容量瓶,加入少

许 $Na_2S_2O_4$ 粉末(一般 30mg 左右)，混匀，产生红色的不溶于水的红色颗粒物 TTF，加 10ml 乙酸乙酯，充分混合溶解颗粒，静置分层(下层 0.25ml 为无色水层，不可用)，上层红色溶液中 TTF 浓度为 100μg/ml。

按下表分别移取上层红色溶液 0.25、0.5、1、1.5、2ml 置于离心管或容量瓶中，用乙酸乙酯补加至 10ml，即获得 TTF 系列标准管。

加入物(ml)	0	1	2	3	4	5
TTF 标准工作液(100μg/ml)	0	0.25	0.5	1	1.5	2
乙酸乙酯	10	9.75	9.5	9	8.5	8
相当于 TTF 含量(μg)	0	25	50	100	150	200

4、 准备样品：取 0.2~0.5g 植物须根系，洗净，用滤纸吸干，完全浸没于 TTC Assay buffer 工作液中，37℃避光孵育 1~3h，加入 2ml TTC 终止液终止反应；同时做一空白对照实验，即根系先完全浸没于 2ml TTC 终止液以杀死根样，再加入 10ml TTC Assay Buffer 工作液，37℃避光孵育 1~3h。

5、 提取：分别将上述实验组和空白对照组的根系取出，滤纸吸干水分，放入研钵或匀浆器中，加入 3~4ml 乙酸乙酯，充分研磨或匀浆，以提取出 TTF，把红色提取液(TTF)转移至离心管，并用少量乙酸乙酯把残渣洗涤 2~3 次，再将洗涤液一并转移至离心管，最后补加乙酸乙酯至 10ml，摇匀。

6、 测定：比色杯光径 1.0cm，系列标准管以“0”号管调零，测定 1~5 号管 485nm 的吸光度值；样品管以空白对照组样品提取液做参比，调零，以分光光度计或酶标仪测定实验组样品提取液在 485nm 的吸光度值。

计算：

以系列标准溶液 TTF 含量(25、50、100、150、200μg)为横坐标，以对应吸光度为纵坐标，绘制 TTF 标准曲线，根据回归方程计算待测样品的 TTF 含量或 TTC 还原量(μg)，即为根系活力或脱氢酶活性。

根系(脱氢酶)活力[mg/(g·h)]=m/(1000×W×t)

式中：m=根据标准曲线查得的样品提取液 TTF 含量(μg)= TTC 还原量(μg)

W=植物须根系的重量(g)

t=孵育时间(h)

注意事项：

1、 配制好的 TTC 溶液(0.4%)和 TTC Assay buffer 工作液应避光保存，若变红应弃用。

2、 根系种类不同，取样量可有不同。

3、 根系应吸干水分但不能挤压伤及细胞，才能测定准确。

4、 提取用的研钵或匀浆器、试管、比色皿均应保持干燥，没有水分。

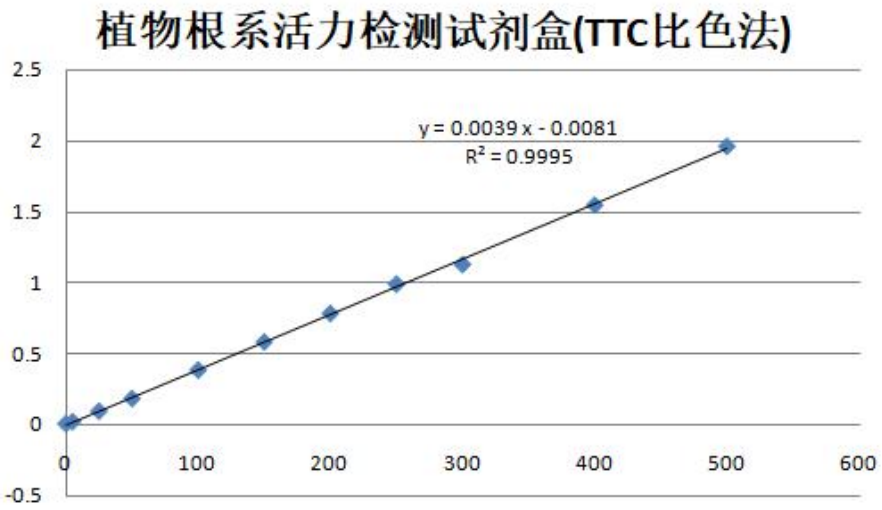
5、 由于本实验采用有机溶剂(乙酸乙酯或丙酮)提取 TTF，因此不能用一次性塑料比色皿或者酶标条进行检测；建议用石英比色皿或玻璃比色皿检测，检测完成后用乙醇清洗并用水冲洗干燥即可。

6、 如果没有分光光度计，也可以使用酶标仪测定，但应注意酶标板每孔检测体积。

7、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

8、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

附录：参考标准曲线范围：测定空白对照，通过分光光度计测定其吸光度多在0.03-0.07 之间；测定 TTF 标准在 5-500μg 时吸光度，据此 作出其标准曲线如下：



注意：由于检测仪器和操作手法等条件的不同，参考值范围会有波动，该值仅供参考，对于要求精确计算植物根系含量的，可以采用标准曲线多点重复测定；根据 测定经验显示，TTF 含量在 5μg 以下，500μg 以上，标准曲线会有偏差。

有效期：12 个月有效，常温运输和保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCCC0007	磷酸缓冲盐溶液(10×PBS,无钙镁)
GCDC0032	Masson 三色染色液
GCDF0135	组织细胞固定液(4% PFA)
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCNR0001	DEPC 处理水(0.1%)
GCTC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)