

Proline Dehydrogenase (ProDH) Activity Assay Kit

脯氨酸脱氢酶 (PDH) 试剂盒说明书

货号:BN72415 | 方法: 微板法 | 规格: 96 样

一、产品简介:

脯氨酸脱氢酶(proline dehydrogenase, PDH, EC 1.5.1.2) 催化脯氨酸生成 Δ^1 -二氢吡咯-5-羧酸的反应, 是脯氨酸降解过程的限速步骤。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 PDH 活性对于防止渗透胁迫对植物造成伤害、保护细胞结构等方面具有重要意义。

脯氨酸脱氢酶(PDH)催化脯氨酸脱氢并使 NAD^+ 还原成 NADH, 通过检测 NADH 在 340nm 处的增加速率即可得出 PDH 酶活性大小。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	粉体 mg×1 支	4°C保存	临用前甩几下, 使粉体落到底部, 再加入 1.1mL 蒸馏水溶解备用
试剂二	液体 15mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	粉体 mg×1 支	4°C保存	临用前甩几下, 使粉体落到底部, 再加入 1.1mL 蒸馏水溶解备用

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

四、脯氨酸脱氢酶 (PDH) 活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

称取约 0.1g 组织样本, 加入 1mL 提取液, 冰浴匀浆, 12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量(g): 提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例进行提取。

2、上机检测:

- ① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 340nm。
- ② 所有试剂解冻至室温 (25°C)。
- ③ 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	40
试剂一	10
试剂二	140
试剂三	10
轻轻混匀, 室温 (25°C) 下, 可先孵育 6min 后于 340nm 处读取 A1, 30min 后读取 A2, $\Delta A = A2 - A1$ 。	

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调; 针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克组织蛋白在每分钟内生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$PDH(\text{nmol/min/mg prot}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V1 \times Cpr) \div T = 53.6 \times \Delta A \div Cpr$$

2、按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织在每分钟内生成 1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$PDH(\text{nmol/min/g 鲜重}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V1 \div V) \div T = 53.6 \times \Delta A \div W$$

V---加入提取液体积，1 mL；

V1---加入样本体积，0.04mL；

V2---反应体系总体积， 2×10^{-4} L；

d---96 孔板光径，0.5cm；

ϵ ---NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L / mol /cm；

W---样本质量，g；

T---反应时间，30min；

Cpr---蛋白浓度（mg/mL），建议使用本公司的 BCA 蛋白含量测定试剂盒。