上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co.， Ltd
电话：400-666-5481　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：3008007435@qq.com

脯氨酸脱氢酶(ProDH)试剂盒

微板法

货号：R45403-96S

产品简介：

脯氨酸脱氢酶(proline　dehydragenase,PDH,EC 1.5.1.2) 催化脯氨酸生成△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。

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℃保存	
试剂一	粉体mg×1支	4℃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℃保存	
试剂三	粉体mg×1支	4℃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

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。

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℃　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℃)。

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℃)下，可先孵育6min后于 340nm处读取A1,30min后读取A2,△A=A2-A1。	

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(nmol/min/mg prot)=[ΔA×V2÷(ε×d)×10^9]÷(V1×Cpr)÷T

=53.6×ΔA÷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(nmol/min/g 鲜重)=[ΔA×V2÷(ε×d)×10^9]÷(W×V1÷V)÷T

=53.6×ΔA÷W

V---加入提取液体积，1mL;

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。