天净沙系列

CAT#:7-SC298-96-4-Pra

低温运输，2-8℃保存

天净沙

TTC 法植物根系活力测定试剂盒

TTC-Based Plant Root Activity Assay Kit

使用手册 V0.52

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品用于测定植物根系（Plant Root）活力。其原理是 TTC 可被氢还原成不溶性的红色三苯基甲臜（TTF），TTF 在 485 nm 处有吸收峰。当 TTC 溶液渗入到植物根部组织时，呼吸过程产生的还原物质可将其还原成 TTF（红色），植物根部组织被染成红色。根系活力强弱可用 TTC 的还原量来表示。此方法检测的根系活力即植物根系的脱氢酶活性。

本产品具有如下特点：

1. 即开即用，使用便捷，用户不需要优化条件，只需准备待测样本。
2. ΔA 测定的测定范围在 0.005-1.5 之间。
3. 本产品的起始材料是制备好的待测样本。本试剂盒不包括样本制备试剂，如果有需要可联系本公司另购。
4. 本产品只可用于科研。

规格及成分

本产品采用大扁盒包装

成份	编号	规格	包装
植物根系活力测定干粉 A	7-SC298-96-4-Pra-a	100 T	30 mL 本色瓶
植物根系活力测定干粉 B	7-SC298-96-4-Pra-b	100 T	30 mL 本色瓶
植物根系活力测定溶液 C	7-SC298-96-4-Pra-c	140 mL	250 mL 本色瓶
植物根系活力测定干粉 D	7-SC298-96-4-Pra-d	100 T	2 mL 本色管
植物根系活力测定标准品干粉 A	7-SC298-96-4-Pra-e	100 T	1.5 mL 本色管
植物根系活力测定标准品干粉 B	7-SC298-96-4-Pra-f	100 T	1.5 mL 本色管
使用手册	sc7-SC298-96-4-Pra	1 份	无

运输及保存

低温运输，2-8℃保存，植物根系活力测定干粉 D 常温保存，有效期一年。

自备试剂

待测样品，乙酸乙酯溶液（>98%，AR），冰和蒸馏水，EP 管。

使用方法

一、溶液配制：

1. 植物根系活力测定溶液：临用前取一瓶植物根系活力测定干粉 B 加入一瓶植物根系活力测定干粉 A 中，加入 30 mL 植物根系活力测定溶液 C 溶解。现用现配。配制好后置于 2-8℃保存，一周内使用，若出现红色，则不能使用。
2. 植物根系活力测定溶液 C：若试剂有结晶析出，可 40℃加热或者超声溶解。
3. 标准品：临用前将植物根系活力测定标准品干粉 B 倒入植物根系活力测定标准品干粉 A 中，再加入 1 mL 植物根系活力测定溶液 C，充分震荡混匀（可再用溶解好的标准液润洗植物根系活力测定标准品干粉 B 管），即 10 mg/mL TTC 标准品。2-8℃可以保

存 1 周，若出现红色，则不能使用。

二、测定准备：

4. 样本的制备：将根部组织洗净，去除根上的泥土，轻轻擦干，不要过分挤压破坏根系细胞。
5. 可见分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 485 nm，可见分光光度计用乙酸乙酯溶液调零。
6. 标准品的稀释：临用前取 10 μL 10 mg/mL TTC 标准品，加入 1990μL 植物根系活力测定溶液 C，充分混匀，配制成 50 μg/mL TTC 标准品，现用现配。（后续实验需要 1000 μL，为减小实验误差，故配制大体积）。
7. 取 1 mL 50 μg/mL TTC 标准品加入到一支植物根系活力测定干粉 D 内，充分震荡混匀 2 min。混匀后加入 1 mL 乙酸乙酯溶液，再次充分震荡混匀 2 min，室温静置分层 5 min，取上层溶液（此上层溶液即为 50 μg/mL TTC-乙酸乙酯标准品）。
8. 将上层溶液用乙酸乙酯溶液进行稀释,得到 12.5 μg/mL 标准品备用(吸取 250 μL 50 μg/mL TTC-乙酸乙酯标准品加入 750 μL 乙酸乙酯溶液混匀即可）。
9. 标准品的测定：取 1000 μL 12.5 μg/mL 标准品和 1000 μL 乙酸乙酯溶液（即 0 μg/mL) 于玻璃比色皿中，分别测定其在 485 nm 处的吸光度。计算ΔA 标准= A（12.5 μg/mL） - A（0 μg/mL）。ΔA 标准只需做 1-2 次。

三、样本测定：

10. 在 5 mL EP 管中按下表步骤加样：

试剂名称	测定管	对照管
样品	0.2 g	0.2 g
植物根系活力测定溶液	2000 μL	-
植物根系活力测定溶液 C	-	2000 μL
根部需要全部浸入溶液中，37℃暗反应 4 h，取出后立即冰浴 5 min，去滤液，尽量用滤纸吸干根系水分，置于研钵/匀浆器中。		
乙酸乙酯溶液	2000 μL	2000 μL

11. 充分研磨(建议在通风橱操作)后全部移至于离心管中，12000×g，4℃，离心 10 min，取 1 mL 上清至玻璃比色皿中，测定 485 nm 下的吸光值。计算ΔA 测定=A 测定- A 对照（每一个测定管对应一个对照管）。ΔA 测定的测定范围在 0.005-1.5 之间。

四、数据处理：

12. 按照样本质量计算根系活力：以 TTC 的还原量来表示根系活力 TTC 还原强度[μg TTC/(g · h)] = ΔA 测定×C 标÷ ΔA 标准×V ÷ (W×T) = 6.25×ΔA 测定÷ ΔA 标准÷W

	13. W：根重（g）；C 标：标准品浓度（12.5 μg/mL）；T：反应时间（4 h）；V：乙酸乙酯溶液的体积即匀浆体积（2 mL） **五、注意事项：** 14. 乙酸乙酯溶液容易挥发，有毒，为了您的健康，请穿实验服，戴口罩，戴乳胶手套操作。 15. 若样品 37℃暗反应未到 4 h 但根系已出现深粉色，此时可以直接进行下一步实验操作；若ΔA 测定大于 1.5，可以减少样本质量或者缩短反应时间进行实验，计算公式注意修改。 16. 若 4 h 暗反应结束后，根系没有出现粉色或者ΔA 测定小于 0.005，可以延长暗反应时间（8 h，16 h 甚至 24 h），或者加大样品量，计算公式注意修改。 17. 如果离心后待测的上清依然浑浊，可尝试加大离心转速或者延长时间，例如 15000×g 4℃离心 20 min。
关联产品	植物胃蛋白酶活性测定试剂盒