



脯氨酸脱氢酶活性检测试剂盒 ProDH Assay Kit

可见分光光度法

产品编号：AK387V

产品规格：50T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
ES387	60mL×1 瓶	4℃保存；
AK387-A	2 mL×1 支	4℃保存；
AK387-B	50 mL×1 瓶	-20℃保存；
AK387-C	粉剂×1 瓶	4℃保存；临用前加入 8mL 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 8mL 蒸馏水充分溶解待用，剩余试剂 4℃保存；
工作液	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；	
AK387-E	粉剂×5 支	4℃保存；临用前加入 1mL 蒸馏水充分溶解待用，现配现用。

※ 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、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、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 1mL 玻璃比色皿中加入下列试剂)

试剂名称	实验管 (μ L)
样本	175
AK387-E	75
工作液	750
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：

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，1mL；V 样：加入样本体积，0.175mL；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](#))