

单脱氢抗坏血酸还原酶(MDHAR)活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHE7-M48	单脱氢抗坏血酸还原酶	48T	微量法
PYHE7-M96	(MDHAR)活性检测试剂盒	96T	

一、测定意义：

单脱氢抗坏血酸还原酶(MDHAR)是抗坏血酸(AsA)再生的关键酶，核心功能是依赖 NADH 将单脱氢抗坏血酸(MDHA)还原为 AsA，直接维持细胞内 AsA 的高含量与氧化还原稳态。测定该酶活性可评估胁迫对植物抗氧化系统的破坏程度，也能解析果实、叶片中 AsA 的留存机制，为筛选抗逆性强或营养价值高的作物品种提供关键指标。

二、测定原理：

单脱氢抗坏血酸还原酶(MDHAR)催化 NADH 还原单脱氢抗坏血酸(MDHA)生成 AsA 和 NAD^+ ，NADH 在 340nm 有特征吸收峰，但 NAD^+ 没有。通过测定 340nm 光吸收下降速率，来计算 MDHAR 活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 5mL×1 瓶	液体 10mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×1 瓶	2~8℃保存
试剂二的配制：使用前每瓶粉剂中加入 10mL 蒸馏水，充分溶解。			
试剂三	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×1 瓶	2~8℃保存
试剂三的配制：使用前每瓶粉剂中加入 10mL 蒸馏水，充分溶解。			
试剂四	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	-20℃保存
试剂四的配制：使用前每瓶粉剂中加入 4mL 蒸馏水，充分溶解。			

四、操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量(g)：提取

液体积(mL)为 1:5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 蒸馏水)，旋涡混匀，沸水浴 30 分钟提取。快速冷却后，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零；
- 2、测定前将试剂恢复至常温；
- 3、工作液的配制：临用前将配好的试剂按照试剂一：试剂二：试剂三：试剂四=2：1：2：1 的比例配制；
- 4、样本测定(在 96 孔 UV 板中依次加入下列试剂)：

试剂名称	测定管	空白管
样品(μL)	20	-
蒸馏水(μL)	-	20
工作液(μL)	200	200
记录 340nm 处 20s 时吸光值 A1 和 5min20s 时的吸光值 A2，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ； $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。(空白管只做 1-2 管)		

五、单脱氢抗坏血酸还原酶(MDHAR)活性测定：

- 1、按样本蛋白浓度计算

单位定义：25℃中每 mg 蛋白每分钟氧化 1μmol NADH 的量为一个活力单位。

计算公式： $\text{MDHAR (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \times 10^6 \div (\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T)$
 $= 0.589 \times \Delta A \div \text{Cpr}$

- 2、按样本质量计算

单位定义：25℃中每 g 鲜重样每分钟氧化 1μmol NADH 的量为一个活力单位。

计算公式： $\text{MDHAR (U/g)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6 \div (\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T)$
 $= 0.589 \times \Delta A \div W$

$V_{\text{样总}}$: 待测样本总体积, 1 mL; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 2.2×10^{-4} L;

$V_{\text{样}}$: 反应体系中加入粗酶液的体积, 0.02 mL; ϵ : NADH 摩尔消光系数, 6.22×10^3 L/mol/cm; d : 96 孔 UV 板光径, 0.6 cm; C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; T : 反应时间: 5 min; 10^6 : 单位换算系数, $1 \text{ mol} = 10^6 \mu\text{mol}$ 。

六、 注意事项:

为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书(以实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定。

【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日