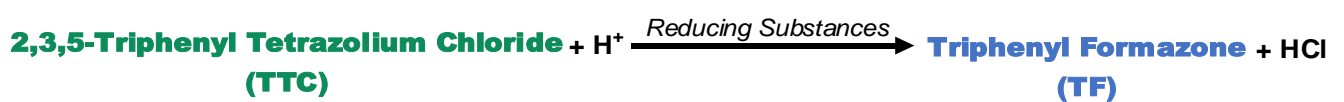




植物根系活力检测试剂盒（TTC 法）

Plant Root Vitality Assay Kit (TTC-Method)



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



植物根系活力检测试剂盒 (TTC 法)

Plant Root Vitality Assay Kit (TTC-Method)

一、产品描述

根系是植物吸收水分和养分的主要器官，其活力直接影响植物的生长发育和产量水平。通过检测根系活力，可以了解植物对环境胁迫的适应能力和资源利用效率，从而评估植物的健康状况和生长潜力，在农业生产和科学研究中具有重要的作用和意义。

氢受体 2,3,5-氯化三苯基四氮唑 (2,3,5-Triphenyl Tetrazolium Chloride, TTC) 可被氢还原为红色三苯基甲胍 (Triphenyl Formazone, TF)，产物在 485 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征植物根系活力水平。本产品中带有反应终止剂，能够有效防止持续反应造成的结果误差。

二、产品内容

名称		试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
试剂一	组分 A	粉剂×3 瓶	4°C避光保存	使用前向 1 瓶组分 A 中加入 1 瓶组分 B 再加入 60 mL 试剂二充分溶解 (配制后 4°C可保存 1 周)
	组分 B	粉剂×3 瓶	4°C保存	
试剂二		液体 100 mL×2 瓶	4°C保存	若出现固体析出属于正常现象 (恢复至室温或超声促溶使沉淀完全溶解即可)
试剂三		粉剂×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂四		液体 30 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准品		粉剂×1 支 (10 mg TTC 标准品)	4°C保存	使用前加入 1 mL 试剂二充分溶解 (即为 10 mg/mL TTC 标准液)

注：TTC 标准液配制后 4°C可保存 1 周，若变为红色则停止使用；试剂一配制后若变为红色则停止使用。

需自备试剂：乙酸乙酯 (C₄H₈O₂, MW=88.11, CAS:141-78-6)

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿 (光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL)、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、乙酸乙酯、5 mL 离心管、2 mL 离心管和蒸馏水。

1.植物根系样本预处理

准备 0.5 g 左右植物根系组织，使用蒸馏水清洗 3-5 次，滤纸吸干水分后即为待测样本。

2.测定步骤

2.1 仪器准备

分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 485 nm，乙酸乙酯调零。

2.2 TTC 标准曲线的制作

①100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TTC 标准液的制备

吸取 100 μL 10 mg/mL TTC 标准液加入 900 μL 试剂二充分混匀，即为 1 mg/mL TTC 标准液；吸取 200 μL 1 mg/mL TTC 标准液至 5 mL 离心管中，加入 1800 μL 试剂二充分混匀，即为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TTC 标准液；

②100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TF 标准液的制备

向步骤①制备的 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TTC 标准液中加入 8-10 mg 试剂三，充分振荡混匀 2 min，此过程会产生不溶红色物质，再加入 2 mL 乙酸乙酯，充分振荡混匀 2 min，室温静置 5 min，待分层后取上层红色溶液，即为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TF 标准液；

③TF 标准稀释液的制备

将步骤②制备的 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TF 标准液使用乙酸乙酯稀释至 30、20、15、10、5、2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，即为 TF 标准稀释液，稀释体积可参考下表：

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	100	100	100	100	100	100
TF 标准液体积 (μL)	300	200	150	100	50	25
乙酸乙酯体积 (μL)	700	800	850	900	950	975
稀释后浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	30	20	15	10	5	2.5

注：乙酸乙酯易挥发，配制后注意密封以防止挥发，建议操作过程在通风橱中进行。

吸光值测定：将 TF 标准稀释液分别置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 485 nm 处吸光值，记为 A 标准；吸取 1 mL 乙酸乙酯至 1 mL 玻璃比色皿中，测定 485 nm 处吸光值，记为 A 空白；计算 ΔA 标准 = A 标准 - A 空白。注：各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 30、20、15、10、5、2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TF 标准稀释液浓度为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标，绘制标准曲线，得到线性回归方程 $y=kx+b$ ($R^2 \geq 0.99$)。

2.3 待测样本的测定

①在 5 mL 离心管中依次加入下列试剂（可根据预实验结果适当调整样本量和反应时间）

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)
待测样本 (mg)	200	200
试剂一	2000	2000
试剂四	-	500
使样本全部浸入溶液, 37°C避光反应 4 h (可根据颜色状态调节时间)		
试剂四	500	-
充分混匀, 将样本取出使用滤纸充分吸干, 置于研钵或匀浆器中		
乙酸乙酯	2000	2000
充分研磨至匀浆, 转移至 5 mL 离心管内, 乙酸乙酯定容至 5 mL; 4°C 15000 g 离心 10 min, 取上清液;		

②吸光值测定: 将上清液置于 1 mL 玻璃比色皿中, 测定 485 nm 处吸光值, 记为 A 测定和 A 对照, 计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照。将 ΔA 测定代入标准方程 $y=kx+b$ 中计算得到 x ($\mu\text{g/mL}$)。注: 每个样本均需设一个对照管。

3.植物根系活力计算 (以 TTC 还原强度表征根系活力)

$$\text{TTC 还原强度}[\mu\text{g TTC}/(\text{g}\cdot\text{h})] = \frac{x \times V_{\text{SE}}}{W \times T} = \frac{1.25 \times x}{W}$$

注释: V_{SE} : 反应体系中使用乙酸乙酯定容的总体积, 5 mL; W : 反应体系中加入待测样本的质量, g; T : 37°C避光反应时间, 4 h。

四、注意事项

①乙酸乙酯易挥发, 建议在通风橱中进行操作, 并做好防护措施;

②若 A 测定大于 1.3, 建议适当缩短 37°C避光反应时间或减少样本量后再进行测定; 若 ΔA 测定小于 0.01, 建议适当延长反应时间或增加样本量后再进行测定, 计算时相应修改;

③TTC 反应后产物为肉眼可见红 (粉) 色产物, 可通过根系颜色大致判断是否需要调整反应时间, 若 37°C避光反应还未到反应时间则出现明显红 (粉) 色可提前终止反应, 并记录具体反应时间; 若 37°C避光反应 4 h 后仍未出现红 (粉) 色, 可直接延长反应时间至 8 h 或 16 h 并记录反应时间;

④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, 过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

