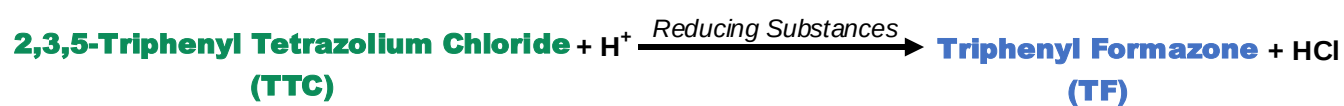




植物根系活力检测试剂盒（TTC 法）

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 and 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臍（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。

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×2 瓶	4°C 保存	使用前在 1 瓶组分 A 中加入 1 瓶组分 B 再加入 30 mL 试剂二充分溶解 (现用现配，配制后 4°C 可保存 1 周)
	组分 B	粉剂×2 瓶	4°C 保存	
试剂二		液体 125 mL×1 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×3 支	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 试剂二充分振荡溶解 (即为 10 mg/mL TTC 标准液)

注：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（Ethyl Acetate, $C_4H_8O_2$, 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：酶标仪、96 孔板（非聚苯乙烯材质酶标板，避免乙酸乙酯腐蚀）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、乙酸乙酯和蒸馏水。

1. 植物根系样本预处理

准备 0.3 g 左右根系组织，使用蒸馏水清洗 2-3 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

酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 485 nm。

2.2 TTC 标准应用液的制备（现用现配）

- ①吸取 100 μ L 10 mg/mL TTC 标准液加入 900 μ L 试剂二充分混匀，即为 1 mg/mL TTC 标准液；
- ②吸取 100 μ L 1 mg/mL TTC 标准液加入 1900 μ L 试剂二充分混匀，即为 50 μ g/mL TTC 标准液；
- ③吸取 1 mL 50 μ g/mL TTC 标准液加入 1 支试剂三中，充分振荡混匀 2 min；
- ④加入 1 mL 乙酸乙酯，充分振荡混匀 2 min，室温静置 5 min，待分层后取上层溶液；
- ⑤吸取 200 μ L 上层溶液，加入 300 μ L 乙酸乙酯充分混匀，即为 20 μ g/mL TTC 标准应用液。

2.3 TTC 标准应用液的测定

- ①吸取 200 μ L 20 μ g/mL TTC 标准应用液至 96 孔板中，测定 485 nm 处吸光值，记为 A 标准；
- ②吸取 200 μ L 乙酸乙酯至 96 孔板中，测定 485 nm 处吸光值，记为 A 空白；
- ③计算 ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：标准和空白只需测定 1-2 次。

2.4 样本的测定

- ①在 2 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 (μ L)	对照管 (μ L)
待测样本 (mg)	100	100
试剂一	1000	-
试剂二	-	1000

①调整样本位置至全部浸入溶液；

②37°C避光培养 4 h，立即冰浴处理 5 min；

③将样本取出并使用滤纸充分吸干水分；

④将样本置于研钵/匀浆器中；

乙酸乙酯	1000	1000
------	------	------

①充分研磨至匀浆，全部转移至离心管中；

②乙酸乙酯定容至 1 mL，充分混匀；

③4°C 15000 g 离心 10 min，取上清液；

②吸光值测定：吸取 200 μ L 上清液至 96 孔板中，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。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）

$$\text{TTC 还原强度}[\mu\text{g TTC}/(\text{g}\cdot\text{h})] = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{SE}}}{\Delta A_{\text{标准}} \times W \times T} = \frac{5 \times \Delta A_{\text{测定}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

注释：C 标：TTC 标准应用液浓度，20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ； V_{SE} ：反应体系中加入乙酸乙酯的总体积，1 mL；

W：反应体系中加入待测样本的质量，g；T：37°C避光培养反应时间，4 h。

四、注意事项

①37°C避光培养结束后应立即冰浴处理以终止反应，并将残留的反应液完全去除；

②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；

③若 A 测定或 ΔA 测定大于 1.3，建议适当缩短 37°C避光培养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；

④TTC 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避光培养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避光培养 4 h 后仍未出现红（粉）色，可直接延长反应时间至红（粉）色出现再进行后续反应；

⑤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.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

