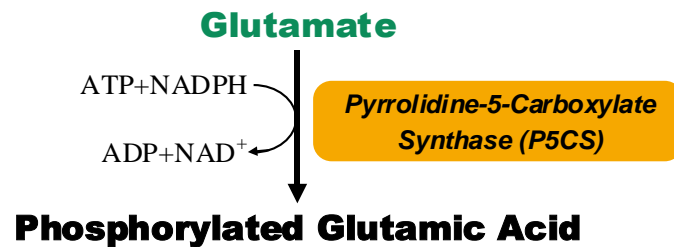




吡咯啉-5-羧酸合成酶 (P5CS) 活性检测试剂盒

**Pyrrolidine-5-Carboxylate Synthase (P5CS) Activity Assay Kit**



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



## 吡咯啉-5-羧酸合成酶 (P5CS) 活性检测试剂盒

### Pyrrolidine-5-Carboxylate Synthase (P5CS) Activity Assay Kit

#### 一、产品描述

植物在干旱、盐渍化、紫外线等不同的胁迫条件下，均会诱导体内脯氨酸的积累，对植物起到保护作用，高等植物中脯氨酸的合成有两条途径，分别以谷氨酸和鸟氨酸为前体。谷氨酸途径主要负责胁迫条件下脯氨酸的积累，而鸟氨酸途径主要在氮充足条件下起作用。

吡咯啉-5-羧酸合成酶 (P5CS) 是脯氨酸的谷氨酸合成途径中的关键酶，P5CS 是一个双功能酶，在 NADPH 和 ATP 作用下，可催化谷氨酸磷酸化及谷氨酸  $\gamma$ -半醛还原，NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征 P5CS 的活性。

#### 二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液 A	液体 110 mL×1 瓶	4°C 保存	-
提取液 B	液体 1.1 mL×1 支	-20°C 保存	-
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三	粉剂×3 支	-20°C 保存	使用前每支加入 833 $\mu$ L 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存1周)
试剂四	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 3 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存1周)

#### 三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿（光径 10 mm）/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、台式离心机、可调式移液器/多道移液器、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

##### 1. 粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

按照组织质量 (g)：提取液体积 (mL) 为 1：(5-10) 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液 A）处理样品，再加入 10  $\mu$ L 提取液 B 充分混匀，冰浴匀浆后 4°C 10000 g 离心 10 min，取上清即为粗酶液，置于冰上待测。

## 2. 测定步骤

① 紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 340 nm，蒸馏水调零。

② 在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 ( $\mu\text{L}$ )	空白组 ( $\mu\text{L}$ )
粗酶液	20	-
蒸馏水	-	20
试剂一	120	120
试剂二	20	20
试剂三	20	20
试剂四	20	20

**吸光值测定：**①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②37°C 准确反应 300 s，测定 310 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算  $\Delta A$  测定 = A1 测定 - A2 测定， $\Delta A$  空白 = A1 空白 - A2 空白， $\Delta A = \Delta A$  测定 -  $\Delta A$  空白。注：空白组只需测定 1-2 次。

## 3. 吡咯啉-5-羧酸合成酶（P5CS）活性计算

① 按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{P5CS (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

② 按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样品每分钟消耗 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{P5CS (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{324.76 \times \Delta A}{W}$$

**注释：** V 样总：待测样本总体积，1.01 mL；V 反总：反应体系总体积， $2 \times 10^{-4}$  L；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL； $\epsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$  L/mol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；微量石英比色皿光径，1 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间：300 s = 5 min； $10^9$ ：单位换算系数，1 mol =  $10^9$  nmol。

#### 四、注意事项

①若 A1 测定大于 1.2 或  $\Delta A$  大于 0.5，建议将样品稀释后再进行测定，若  $\Delta A$  小于 0.02，可适当延长反应时间后再进行测定，计算时相应修改；

②空白组为检测各试剂组分质量的检测孔，正常情况变化不超过 0.05；

③准确在 10 s 和 310 s 处完成吸光值测定，以确保试验结果的准确性和重复性；

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.**

**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.

