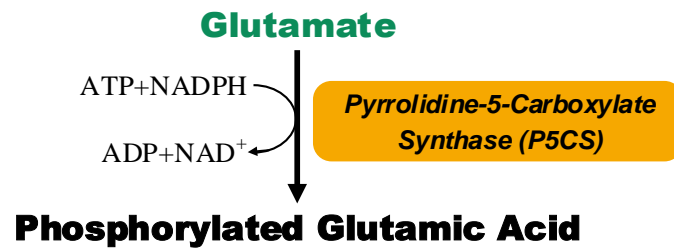




吡咯啉-5-羧酸合成酶 (P5CS) 活性检测试剂盒

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 γ -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 60 mL×1 瓶 | 4°C 保存 | - |
| 提取液 B | 液体 600 μ L×1 支 | -20°C 保存 | - |
| 试剂一 | 液体 40 mL×1 瓶 | 4°C 保存 | - |
| 试剂二 | 液体 6 mL×1 瓶 | 4°C 保存 | - |
| 试剂三 | 粉剂×2 瓶 | -20°C 保存 | 使用前加入 2.5 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 周) |
| 试剂四 | 粉剂×2 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、1 mL 石英比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、台式离心机、可调式移液器、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 μ 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紫外分光光度计预热 30 min 以上，波长调至 340 nm，蒸馏水调零。

②在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

| 试剂 | 测定组 (μL) | 空白组 (μL) |
|-----|--------------------------|--------------------------|
| 粗酶液 | 100 | - |
| 蒸馏水 | - | 100 |
| 试剂一 | 600 | 600 |
| 试剂二 | 100 | 100 |
| 试剂三 | 100 | 100 |
| 试剂四 | 100 | 100 |

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 ΔA 测定 = A1 测定 - A2 测定， ΔA 空白 = A1 空白 - A2 空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定 - ΔA 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， 1×10^{-3} L；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.1 mL； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：1 mL 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 ΔA 大于 0.5，建议将样品稀释后再进行测定，若 ΔA 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.

