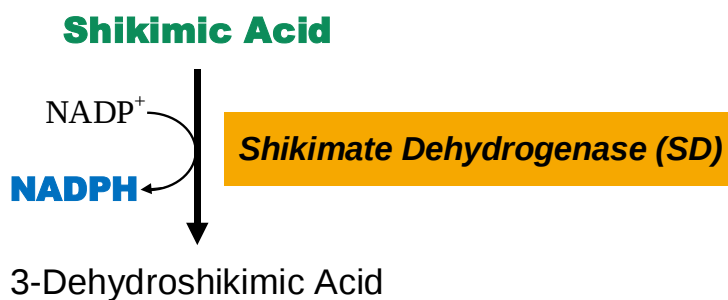




莽草酸脱氢酶 (SD) 活性检测试剂盒

Shikimate Dehydrogenase (SD) Activity Assay Kit



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



莽草酸脱氢酶 (SD) 活性检测试剂盒

Shikimate Dehydrogenase (SD) Activity Assay Kit

一、产品描述

莽草酸途径是存在于植物和微生物中，芳香族氨基酸、黄酮等芳香化合物的重要的代谢途径，其中莽草酸脱氢酶 (SD) 是莽草酸合成代谢途径中催化第四步反应的关键酶，在植物体中能够与脱氢奎尼酸 (DHQ) 形成具有双功能的酶以增加代谢物流通的效率，其活性分析对莽草酸途径的分析具有重要意义。

莽草酸脱氢酶能够催化莽草酸和 NADP 产生 NADPH，NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过测定吸光值的增加速率即可表征莽草酸脱氢酶活性。

二、产品内容

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	含有不溶物，混匀后使用即可
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C避光保存	使用前加入 10 mL 蒸馏水充分溶解
试剂三	粉剂×2 瓶	-20°C避光保存	使用前每瓶加入 11 mL 蒸馏水充分溶解

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、台式离心机、可调式移液器、恒温水浴/培养箱、研钵/匀浆器和蒸馏水。

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）

①组织：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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞到离心管内，按照细胞数量 (10^4 个)：提取液体积 (mL) 为 (500-1000)：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或使用提取液适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①紫外分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。

②检测工作液的制备（现用现配）：使用前根据使用量按试剂一：试剂二：试剂三 = 7:4:8 (v/v) 的体积比例充分混匀，25℃预热 15 min 后使用。

③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)
检测工作液	950	950
粗酶液	50	-
蒸馏水	-	50

吸光值测定：①加入粗酶液即开始计时，充分混匀，测定 20 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定、A1 空白；②准确反应 300 s 后，测定 320 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定、A2 空白；③计算 ΔA 测定 = A2 测定 - A1 测定， ΔA 空白 = A2 空白 - A1 空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定 - ΔA 空白。注：空白组只需测定 1-2 次。

3.莽草酸脱氢酶（SD）活性计算

①按组织样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 蛋白每分钟产生 1 nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{SD 活性 (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}} \times T} = \frac{643 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 样品每分钟产生 1 nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{SD 活性 (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{643 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细胞每分钟产生 1 nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{SD 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{643 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟产生 1 nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{SD 活性 (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 643 \times \Delta A$$

注释：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，0.05 mL； ϵ ：NADPH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：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提取后上清液应置于冰上待测，且样本提取完成后建议 2 h 内测定以免失活；
- ②提取液中含有一定浓度蛋白（约 1 mg/mL），样品测定蛋白浓度时需扣除提取液自身蛋白浓度；
- ③若 ΔA 大于 1，建议将样品稀释后再进行测定，若 ΔA 小于 0.01，可以延长反应时间（10 min 或 15 min）进行测定，计算时相应修改；
- ④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 0.01；
- 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.

