

## 肉桂醇脱氢酶 (CAD) 检测试剂盒 (肉桂酸微板法)

产品货号: BA1699

产品规格: 60T

### 产品简介:

肉桂醇脱氢酶(cinnamyl alcohol dehydrogenase, CAD)是催化香豆醛形成松柏醇的酶。该酶多存在于高等植物、酵母、菌类可溶性部分物质,属于细胞木质素合成途径中间的关键酶,研究该酶可以探讨多种生物细胞发育过程中木质素沉积的代谢机理,为减少水果石细胞含量提高其品质提供依据。

肉桂醇脱氢酶(CAD)检测试剂盒(肉桂酸比色法)检测原理是以肉桂酸、NADP作为底物,在酶促反应的最适条件下采用每隔一定时间测定产物生成量的方法,于分光光度计340nm处检测吸光度,以吸光度变化所需酶量进行计算,该试剂盒主要用于植物组织的裂解液或匀浆液、血清等样品中内源性的肉桂醇脱氢酶活性,尤其适用于检测水果中肉桂醇脱氢酶活性,60T可以检测约57~58个样品。该试剂盒仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成:

试剂名称	60T	保存条件
试剂(A): CAD Lysis buffer	80ml	2-8℃, 避光
试剂(B): CAD Assay buffer	10ml	2-8℃, 避光
试剂(C): NADP	1支	-20℃
试剂(D): CAD 终止液(备选)	1ml	室温

### 自备材料:

1. 蒸馏水
2. 研钵或匀浆器
3. 离心管或试管
4. 低温离心机
5. 水浴锅或恒温箱
6. 96孔板酶标仪

### 操作步骤:

#### 1. 准备样品:

- ①植物样品:取 1g 植物组织或水果中层果肉置于液氮中迅速研磨或匀浆,加入 1ml 预冷的 CAD Lysis buffer, 4℃ 10000g 离心 15~20min, 留取上清液, -20℃冻存, 用于肉桂醇脱氢酶的检测。
- ②血浆、血清和尿液样品:血浆、血清按照常规方法制备后可以直接用于本试剂盒的测定, -20℃冻存, 用于肉桂醇脱氢酶的检测。
- ③细胞或组织样品:取恰当细胞或组织裂解液, 如有必要用 CAD Lysis buffer 进行适当匀浆, 10000g, 4℃ 10000g 离心 15~20min, 取上清液, -20℃冻存, 用于肉桂醇脱氢酶的检测。
- ④高活性样品:如果样品中含有较高活性的肉桂醇脱氢酶, 可以使用 CAD Lysis buffer 稀释进行恰当的稀释。

2. 配制 CAD Assay buffer 工作液:取 1支 NADP 完全溶解于 10ml CAD Assay buffer, 即为 CAD Assay buffer 工作液。CAD Assay buffer 工作液 4℃保存 1周, -20℃保存 3个月。

3. CAD 加样:取 96孔板, 按照下表设置对照孔、测定孔, 溶液应按照顺序依次加入, 并注意避免产生气泡。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

如果样品中的 CAD 活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置 2 平行孔，求平均值。

加入物 (μL)	对照孔	测定孔
CAD Lysis buffer	40	-
待测样品	-	40
CAD Assay buffer 工作液	160	160

4. CAD 检测：以对照孔为对照(调零)，酶标仪立即测定 340nm 处测定孔的吸光度(记为  $A_{\text{测定}0}$ )。37℃准确孵育 10min，立即加入 10 μl CAD 终止液终止反应(备选方案)，以对照孔为对照(调零)，酶标仪立即测定 340nm 处测定孔的吸光度(记为  $A_{\text{测定}1}$ )。注意：加入 CAD 终止液终止反应不是必须步骤，可 37℃准确孵育 10min 后直接以对照孔为对照(调零)，酶标仪立即测定 340nm 处测定孔的吸光度(记为  $A_{\text{测定}1}$ )。乐业建议立即检测，加样时间越短越好，其反应基本在 1~5min 内，其后反应趋于平缓。

注意：该反应系统是利用速率变化，求得相应 OD 的变化，进而推算出 NADP 的消耗速率，再进一步推算出 CAD 的量，因此立即计时很重要，每次检测指标不宜过多，否则有可能由于操作时间有差异进而导致结果偏差。

#### 计算：

CAD 活性单位的定义：在该实验条件下，每 1min 吸光度变化 0.01 所需酶量为一个活性单位。

$$\text{组织样品 CAD(U)} = \{(A_{\text{测定}1} - A_{\text{测定}0}) \times V_T\} / (W \times V_S \times 0.01 \times t)$$

式中： $A_{\text{测定}1}$  = 孵育 10min 后测定管的吸光度

$A_{\text{测定}0}$  = 加入 CAD Assay buffer 工作液后立即测定的测定管吸光度

W = 组织样本的重量(g)

$V_T$  = 提取酶液的总体积(ml)

$V^S$  = 测定时所用酶液体积(ml)

t = 反应时间(min) = 10

$$\text{液体样品 CAD(U)} = (A_{\text{测定}1} - A_{\text{测定}0}) / (0.01 \times t)$$

式中： $A_{\text{测定}1}$  = 准确孵育 10min 测定管的吸光度

$A_{\text{测定}0}$  = 加入 CAD Assay buffer 工作液后立即测定的测定管吸光度

t = 反应时间(min) = 10

#### 注意事项：

- 待测样品中不能含有酶抑制剂，同时需避免反复冻融。
- 提 CAD 酶液取时，注意低温操作，防止酶活性，亦可 -20℃ 保存。
- CAD 终止液具有一定腐蚀性，请小心操作。
- 如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定，每次检测指标不宜过多，否则操作时间不一，有可能导致样本间的差异。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 有效期：

6 个月有效。



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com