

肉桂醇脱氢酶（CAD）活性检测试剂盒（紫外分光光度法）

产品货号：BA1962

产品规格：50T/48S

产品简介：

CAD是木质素生物合成途径中的关键酶之一，催化香豆醛、芥子醛以及松柏醛等生成与之相应的肉桂醇。该酶多存在于高等植物、酵母、菌类中，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。

CAD催化肉桂醛和NADPH生成肉桂醇和NADP⁺，在340nm下测定NADPH消耗速率，即可反映CAD活性。



注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×1瓶	-20℃
试剂二	液体×1瓶	2-8℃
试剂三	液体50mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 提取液：内含不溶物，使用前摇匀。
2. 试剂一：临用前加入15mL试剂三溶解。可溶解后分装-20℃保存，避免反复冻融。
3. 试剂二：液体置于试剂瓶内玻璃管中。临用前加入15mL乙醇充分混匀，配好后2-8℃保存。
4. 工作液的配制：将试剂一、试剂二、试剂三按1:1:2（V:V:V）的比例配制工作液，工作液现用现配。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、低温离心机、水浴锅、1mL石英比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰、乙醇和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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0.1g组织，加入1mL提取液（加入前摇匀））进行冰浴匀浆，然后8000g，4℃，离心10min，取上清置于冰上待测。
2. 细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（10⁴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1mL提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率200W，超声3s，间隔10s，重复30次）；10000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

二、测定步骤

1. 紫外分光光度计预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。
2. 操作表：在1mL石英比色皿中分别加入下列试剂：

试剂名称（μL）	空白管	测定管
样本	-	100
蒸馏水	100	-



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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

工作液	900	900
在1mL石英比色皿中分别加入上述试剂，充分混匀后于340nm处测定10s时的吸光值A1，迅速置于25℃水浴5min，拿出迅速擦干测定5min10s时的吸光值A2，计算 ΔA 测定管=A1测定-A2测定， ΔA 空白管=A1空白-A2空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定管- ΔA 空白管（空白管只需做1-2次）。		

三、CAD酶活计算

1. 按蛋白浓度计算

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

$$\text{CAD酶活 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本质量计算

酶活定义：每g组织每分钟消耗1nmol的NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAD酶活 (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div W$$

3. 按细菌或细胞数量计算

酶活定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟消耗1nmol的NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAD酶活 (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.643 \times \Delta A$$

ϵ : NADPH摩尔消光系数, $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d : 比色皿光径, 1 cm ; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.001 L ; $V_{\text{样}}$: 反应体系中样本体积, 0.1 mL ; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL ; C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL , 蛋白浓度自行测定; W : 样本质量, g ; T : 反应时间, 5 min ; 500 : 细菌或细胞总数, 500 万 ; 10^9 : 单位换算系数, $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ 。

注意事项:

1. 当A1小于0.8，建议将样本用蒸馏水稀释后再进行测定。
2. 空白管为检测各试剂组分质量的检测孔，正常情况下，变化不超过0.04。

实验实例:

1. 取约0.1g三叶草叶，加入1mL提取液进行冰浴匀浆，然后10000g，4℃，离心10min，取上清，按照测定步骤操作，测定计算 ΔA 测定管=A1测定-A2测定=1.532-1.462=0.07， ΔA 空白管=A1空白-A2空白=1.012-1.007=0.005， $\Delta A = \Delta A$ 测定管- ΔA 空白管=0.07-0.005=0.065，按样本质量计算得：
CAD酶活 (U/g 质量) = $321.54 \times \Delta A \div W = 209.001 \text{ U/g 质量}$ 。



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