

肉桂醇脱氢酶（CAD）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHC7-C24	肉桂醇脱氢酶（CAD）活性 检测试剂盒	24T	常量法
PYHC7-C48		48T	

一、测定意义：

肉桂醇脱氢酶（CAD）是植物木质素生物合成途径中的关键酶，其活性直接影响木质素的含量和组成。木质素是植物细胞壁的重要成分，参与植物抗病、抗虫和抗逆（如干旱、盐胁迫）的生理过程。CAD活性与植物生长发育密切相关，尤其是在茎、根等木质化组织的形成过程中。

二、测定原理：

肉桂醇脱氢酶（CAD）催化肉桂醇氧化为肉桂醛，通过监测反应中NADP⁺的生成量，在340 nm波长下测定吸光度的变化，通过吸光度变化速率计算酶活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 36mL×1 瓶	液体 72mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉体 ×2 瓶	-20℃保存
试剂二的配制：用时每瓶粉剂加入试剂一 24mL，混匀充分溶解，-20℃保存1周，避免反复冻融。			
试剂三	粉剂 ×1 瓶	粉体 ×2 瓶	-20℃保存
试剂三的配制：用时每瓶粉剂加入试剂五 12mL，混匀充分溶解，现用现配。			
试剂四	液体 12mL×1 瓶	液体 24mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂五	液体 12mL×1 瓶	液体 24mL×1 瓶	2~8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，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）处理样品，室温研磨至匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清即为粗酶液，置于冰上待测。

测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零；
- 2、测定前将试剂平衡至常温；
- 3、操作表（在玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	空白管
样品（μL）	200	-
试剂一（μL）	-	200
试剂二（μL）	400	400
试剂三（μL）	400	400
37℃反应 30min		
试剂四（μL）	200	200
混合均匀，显色稳定后于 340nm 读数，测定其吸光值，分别记为 A _{空白} 、A _{测定} 。计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。（空白管只做 1-2 管）		

五、肉桂醇脱氢酶（CAD）活性测定：

- 1、按样本蛋白浓度计算

单位定义：每毫克蛋白每分钟生成 1nmol NADPH 为一个酶活力单位。

计算公式： $\text{CAD (U/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = \Delta A \times 32.15 \div \text{Cpr}$

- 2、按样本质量计算

单位定义：每克组织每分钟生成 1nmol NADPH 为一个酶活力单位。

计算公式： $\text{CAD (U/min/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = \Delta A \times 32.15 \div W$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 1.2×10^{-3} L； ϵ ：NADPH， 6.22×10^3 L/mol/cm；

d: 比色皿光径, 1cm; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.2mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 30min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;
 10^9 : 单位换算系数, $1\text{mol}=10^9\text{nmol}$; W: 样本质量, g。

六、 注意事项:

- 1、样本测试前请选取 2 个预期差异最大的样本, 稀释成不同浓度进行预试, 以选取最佳取样浓度;
- 2、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。

【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日