

## 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-M48 | 肉桂醇脱氢酶（CAD）活性<br>检测试剂盒 | 48T  | 微量法  |
| PYHC7-M96 |                        | 96T  |      |

### 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<sup>+</sup>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(48T)   | 试剂装量(96T)    | 保存条件   |
|---|-------------|--------------|--------|
| 提取液   | 液体 60mL×1 瓶 | 液体 110mL×1 瓶 | 2~8℃保存 |
| 试剂一   | 液体 15mL×1 瓶 | 液体 30mL×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 10mL，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 5mL，混匀充分溶解，现用现配。             |             |              |        |
| 试剂四   | 液体 5mL×1 瓶  | 液体 10mL×1 瓶  | 2~8℃保存 |
| 试剂五   | 液体 5mL×1 瓶  | 液体 10mL×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、酶标仪预热 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 96 孔 UV 板中依次加入下列试剂）：

| 试剂名称  | 测定管 | 空白管 |
|---|-----|-----|
| 样品（μL）  | 40  | -   |
| 试剂一（μL）   | -   | 40  |
| 试剂二（μL）   | 80  | 80  |
| 试剂三（μL）   | 80  | 80  |
| 37℃反应 30min   |     |     |
| 试剂四（μL）   | 40  | 40  |
| 混合均匀，显色稳定后于 340nm 读数，测定其吸光值，分别记为 A <sub>空白</sub> 、A <sub>测定</sub> 。计算 $\Delta A = A_{测定} - A_{空白}$ 。（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：**  $CAD (U/min/mg \text{ prot}) = [\Delta A \times V_{反应} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{样} \times Cpr) \div T = \Delta A \times 53.58 \div Cpr$

- 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：**  $CAD (U/min/g \text{ 鲜重}) = [\Delta A \times V_{反应} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{样} \div V_{样总} \times W) \div T = \Delta A \times 53.58 \div W$

$V_{反应}$ ：反应体系总体积， $2.4 \times 10^{-4} L$ ； $\epsilon$ ：NADPH， $6.22 \times 10^3 L/mol/cm$ ；

d: 96 孔 UV 板光径, 0.6cm;  $V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.04mL;  $V_{\text{样总}}$ :  
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, 1mol=10<sup>9</sup>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