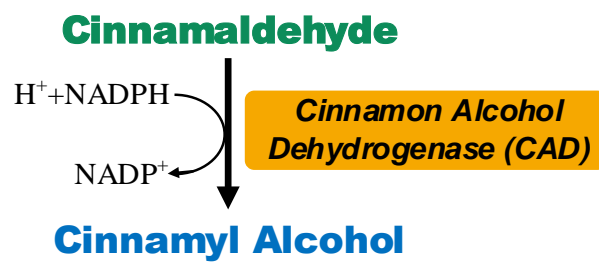




肉桂醇脱氢酶 (CAD) 活性检测试剂盒

Cinnamon Alcohol Dehydrogenase (CAD) Activity Assay Kit



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



## 肉桂醇脱氢酶 (CAD) 活性检测试剂盒

## Cinnamon Alcohol Dehydrogenase (CAD) Activity Assay Kit

## 一、产品描述

肉桂醇脱氢酶 (CAD) 是木质素合成途径中的一种关键酶, 多存在于高等植物、酵母和细菌中, 主要作用于木质素单体生物合成的最后一步, 催化香豆醛、芥子醛以及松柏醛等生成与之相应的肉桂醇, 在木质素单体生物合成的下游反应中起关键作用。

肉桂醇脱氢酶能够催化肉桂醛和 NADPH 生成肉桂醇和  $\text{NADP}^+$ , NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化速率即可表征肉桂醇脱氢酶的活性。

## 二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C 保存	内含不溶物, 充分混匀后使用
试剂一	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 5 mL 试剂三充分溶解 (分装后-20°C 保存, 避免反复冻融)
试剂二	液体×1 瓶	4°C 保存	使用前加入 15 mL 无水乙醇充分混匀
试剂三	液体 25 mL×1 瓶	4°C 保存	-
检测工作液的制备 (现用现配): 根据使用量按试剂一: 试剂二: 试剂三=1:1:2 的体积比配制, 充分混匀即为检测工作液。			

需自备试剂: 无水乙醇 ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ , MW = 46.07, CAS: 64-17-5)

## 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/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、无水乙醇和蒸馏水。

## 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 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 10000 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至离心管内, 按照细菌或细胞数量 ( $10^4$  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 20% 或 200 W, 超声 3 s, 间隔 10 s, 重复 30 次), 4°C 10000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

## 2.测定步骤

- ①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。
- ②在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 ( $\mu\text{L}$ )	空白组 ( $\mu\text{L}$ )
粗酶液	20	-
蒸馏水	-	20
检测工作液	180	180

**吸光值测定：**①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②25°C 准确反应 300 s，测定 310 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。注：空白组只需测定 1-2 次。

## 3.肉桂醇脱氢酶（CAD）活性计算

### 3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

- ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAD (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{643.09 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

- ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每分钟消耗 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAD (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{643.09 \times \Delta A}{W}$$

- ③细菌或细胞数量计算

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

$$\text{CAD (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{643.09 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 反总：反应体系总体积， $2 \times 10^{-4}$  L；V 样总：粗酶液总体积，1 mL； $\epsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$  L/mol/cm； $d_1$ ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间：300 s=5 min； $10^9$ ：单位换算系数，1 mol= $10^9$  nmol。

### 3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

#### ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAD (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

#### ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每分钟消耗 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAD (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{W}$$

#### ③细菌或细胞数量计算

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

$$\text{CAD (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 反总：反应体系总体积， $2 \times 10^{-4}$  L；V 样总：粗酶液总体积，1 mL； $\epsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$  L/mol/cm； $d_2$ ：微量石英比色皿光径，1.0 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；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准确在 10 s 和 310 s 处完成吸光值测定，以确保试验结果的准确性和重复性；若使用 96 孔 UV 板应使用多道移液器且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

②若 A1 测定小于 0.8，表明反应速率过快，建议将待测样本适当稀释后再进行测定；

③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.**

