

肉桂酸-4-羟化酶（C4H）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1229

保存：-20℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：植物组织、真菌、细菌

产品简介

肉桂酸-4-羟化酶（C4H）又称反式肉桂酸-4-单氧化酶，是催化桂皮酸形成咖啡豆、香豆酸的酶。C4H 多存在于高等植物、酵母、菌类中，属于细胞木质素合成途径中间的关键酶。该酶催化肉桂酸羟化作用产生 4-香豆酸盐，是苯丙烷途径中继 L-苯丙氨酸解氨酶之后的第二个关键酶。本试剂盒提供了一种简单、方便、快速的 C4H 活性检测方法，其原理是 C4H 催化肉桂酸和 NADP 生成 4-香豆酸盐和 NADPH，NADPH 在 340nm 处有特征吸收峰，在 340nm 下测定 NADPH 生成速率，即可反映 C4H 活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃ 保存
试剂一	12.5mL	25mL	4℃ 保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃ 保存

自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测340nm处的吸光度）及恒温箱
96孔UV微孔板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头
制冰机、低温离心机
去离子水
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂二：使用时在每瓶试剂二中加入 10mL 试剂一充分溶解混匀，置于 25℃ 孵育 5min，现配现用。配好后 24h 内用完，或将用不完的试剂分装后-20℃ 保存；避免反复冻融。

样本制备

组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，8,000g, 4℃ 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

细菌或真菌：先收集细菌或真菌到离心管内，离心后弃上清；按 500 万细菌或真菌加入 1mL 提取液的比例加入提取液，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），8,000g, 4℃ 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃ 保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 Bradford 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或紫外分光光度计预热30min以上，调节波长到340nm，紫外分光光度计去离子水调零。

产品说明书

样本测定：在 96 孔板或微量石英比色皿中加入 10 μ L 样本和 190 μ L 试剂二，混匀，立即记录 340nm 处初始吸光值 A_1 和 25 $^{\circ}$ C 孵育 5min 后的吸光值 A_2 ，计算 $\Delta A=A_2-A_1$ 。

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 ΔA 小于 0.001 可适当加大样本量，如果 ΔA 大于 1.0，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

结果计算

A. 用96孔板测定的计算公式如下

(1) 按样本鲜重计算：

酶活力单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟产生1nmol的NADPH定义为一个酶活力单位。

$$C4H(U/g \text{ 鲜重}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1286 \times \Delta A \div W$$

(2) 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟产生1nmol的NADPH定义为一个酶活力单位。

$$C4H(U/mg \text{ prot}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T = 1286 \times \Delta A \div Cpr$$

(3) 按细菌或真菌细胞数量计算：

单位的定义：每1万个细菌或真菌在反应体系中每分钟产生1nmol的NADPH定义为一个酶活力单位。

$$C4H(U/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2.572 \times \Delta A$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADH摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d ：96孔板光径，0.5cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.01 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； T ：反应时间，5min； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； W ：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500万。

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径 d :0.5cm调整为 d :1cm进行计算即可。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1214 肉桂醇脱氢酶 (CAD) 检测试剂盒(微量法)

PMK1215 4-香豆酸：辅酶 A 连接酶 (4CL) 检测试剂盒(微量法)

PMK1222 植酸酶检测试剂盒(微量法)

PMK1226 木质素过氧化物酶 (LiP) 检测试剂盒(微量法)

PMK1228 莽草酸脱氢酶 (SD) 检测试剂盒(微量法)



更多产品详情了解，请关注公众号：