

肉桂酸-4-羟化酶（C4H）活性检测试剂盒（紫外分光光度法）

产品货号：BA1860

产品规格：50T/48S

产品简介：

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。

C4H催化肉桂酸和NADPH生成4-香豆酸盐和NADP，在340nm下测定NADPH的减少速率，即可反映C4H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	液体40mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×2瓶	2-8℃
试剂三	粉剂×2瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入3mL乙醇溶解备用。2-8℃保存4周。
2. 试剂三：临用前每瓶加入3mL双蒸水充分溶解待用。现配现用。-20℃分装可保存4周，避免反复冻融。

需自备的仪器和用品：

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

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可参考文献）

1. 组织：称取约0.1g组织，加入1mL提取液进行冰浴匀浆。12000g 4℃离心15分钟，取上清，置冰上待测。
2. 细胞或细菌样本的制备：先收集细胞或细菌样本到离心管内，弃上清，按照每500万细胞或细菌加入1mL提取液，超声波破碎细菌或细胞（功率20%，超声3s，间隔10s，重复30次）。12000g，4℃离心15min，取上清，置冰上待测。

二、测定步骤

1. 紫外分光光度计预热30min，波长调至340nm，蒸馏水调零。
2. 加样表（在1mL石英比色皿中分别加入）：

试剂名称（ μ L）	测定管
试剂一	700
试剂二	100
试剂三	100
样本	100

充分混匀后立即测定10s时在340nm下的吸光度，记为A1，之后迅速将其放入37℃水浴或37℃培养箱中3min。然后迅速拿出擦净后测定190s时的吸光度，记为A2。计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

三、C4H 酶活计算

1. 按蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟减少 1nmol NADPH 的酶量定义为一个酶活性单位。

$$\text{C4H 酶活 (U/mg prot)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 535.91 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本质量计算：

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟减少 1nmol NADPH 的酶量定义为一个酶活性单位。

$$\text{C4H 酶活 (U/g 质量)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}}] \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 535.91 \times \Delta A \div W$$

3. 按细胞或细菌个数计算：

单位的定义：每 10^4 个细胞或细菌在反应体系中每分钟减少 1nmol NADPH 的酶量定义为一个酶活性单位。

$$\text{C4H 酶活 (U/10}^4\text{cell)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}}] \div (500 \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 1.072 \times \Delta A$$

V 反总：反应总体积，0.001L； ϵ ：NADPH 的摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ；d：比色皿光径，1cm；V

样：加入的样本体积，0.1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；V 提取：提取液体积，1mL；500：500 万个细胞；T：反应时间，3min； 10^9 ：单位换算系数， $1\text{mol}=10^9\text{nmol}$ 。

注意事项：

当 ΔA 大于 0.4 时，建议将样本用提取液稀释后测量； ΔA 过小时，建议增加酶促反应时间（5min 或 10min）或增加加入的样本体积来测定。

实验实例：

1. 取 0.1g 黄豆（发芽）加入 1mL 提取液进行匀浆研磨，取上清后按照测定步骤操作，测得计算

$\Delta A = A_1 - A_2 = 1.643 - 1.510 = 0.133$ ，按样本质量计算酶活得：

$$\text{C4H 酶活 (U/g 质量)} = 535.91 \times \Delta A \div W = 535.91 \times 0.133 \div 0.1 = 712.76 \text{ U/g 质量}。$$



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>