上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co.， Ltd
电话：400-666-5481　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：3008007435@qq.com

肉桂酸4-羟基化酶(C4H)试剂盒

微板法

货号：R45398-48S/96S

产品简介：

肉桂酸-4-羟基化酶 (C4H,EC 1.14.13.11) 是苯丙烷类代谢途径的关键酶。可有效调节与之相应的黄酮类化合物等次生代谢产物的合成，其活性可作为植物抗性的一个生理指标。

本产品测试原理是以肉桂酸作为底物，在酶促反应的最适条件下，肉桂酸-4-羟基化酶催化底物生成4-羟基反式肉桂酸，其在最佳PH 值下，产物4-羟基反式肉桂酸在340nm 下有最大吸收峰，进而计算出该酶活性大小。

试剂盒组成和配制：

试剂名称	R45398-48S	保存方式	备注
提取液	液体60mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体2.5mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂×2瓶	-20℃保存	用前甩几下使粉剂落入底部，每瓶再加10mL蒸馏水溶解，用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融，一周内用完。
试剂三	液体15mL×1瓶	4℃保存	
试剂四	液体2.5mL×1瓶	4℃保存	
试剂五	液体3mL×1瓶	4℃保存	

试剂名称	R45398-96S	保存方式	备注
提取液	液体100mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体5mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂×2瓶	-20℃保存	用前甩几下使粉剂落入底部，每瓶再加20mL蒸馏水溶解，用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融，一周内用完。
试剂三	液体30mL×1瓶	4℃保存	
试剂四	液体5mL×1瓶	4℃保存	
试剂五	液体6mL×1瓶	4℃保存	

所需用的仪器与用品：

酶标仪、96孔板、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

肉桂酸4- 羟基化酶 (C4H) 活性检测：

建议正式实验前选取2个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备 ：

称取约0.1g 组织(水分充足的样本可取0.5g)，加 入 1mL 提取液组织，进行冰浴匀浆。12000rpm,4℃离 心 1 0min，取上清，置冰上待测。

【注】:若增加样本量，可按照组织质量 (g)：提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取

2、 上机检测：

①酶标仪预热30min 以上，调节波长至340nm。

②在EP管中依次加入：

试剂(μL)	测定管	空白管(仅做一次)
样本	100	
试剂一	50	50
试剂二	350	350
试剂三	300	400
混匀，30℃水浴反应30min		
试剂四	50	50
混匀，静置2min		
试剂五	60	60
混匀后，取200μL转移至96孔板，在340nm下读取吸光值A，△A=A测定-A空白。		

结果计算 ：

1. 按样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每分钟产生1nmol 的4-羟基反式肉桂酸为一个酶活力单位。

C4H(nmol/min/g 鲜重)=[(ΔA÷ε÷d×V2×10^9)]÷(W×V1÷V)÷T

=24.8×ΔA×W

2. 按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟产生1nmol 的4-羟基反式肉桂酸为一个酶活力单位。

C4H(nmol/min/mg prot)=[(ΔA÷ε÷d×V2×10^9)]÷(V1×Cpr)÷T

=24.8×ΔA×Cpr

ε---4-羟基反式肉桂酸在此反应条件下于340nm 处的摩尔吸光系数，2.45×10^4L/mol/cm；

V---加入提取液体积，1mL;

V1--- 加入样本体积，0.1mL;

V2--- 反应体系总体积，910 μL=9.1×10^{-4} L;

d-- 96 孔板光径，0.5 cm;

T--- 反应时间，30 min;

W---样本质量，g;

Cpr---样本蛋白质浓度， mg/mL；建议使用本公司的BCA蛋白含量检测试剂盒。