

## 苯丙氨酸解氨酶(PAL) 活性检测试剂盒 (微量法)

(本试剂盒仅供科研使用)

### 产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0104	苯丙氨酸解氨酶(PAL) 活性检测试剂盒	100 管/96 样

### 产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 100mL ×1 瓶	4°C
试剂一	液体 15mL ×1 瓶	4°C
试剂二	粉剂×1 瓶: 临用前加入 4mL 蒸馏水充分溶解待用; 用不完的试剂 4°C保存一周。	4°C
试剂三	液体 1mL ×1 瓶	4°C

### 一、产品说明

苯丙氨酸解氨酶(PAL) (EC4.3.1.5) 广泛存在于各种植物和少数微生物中, 是植物体内苯丙烷类代谢的关键酶, 与一些重要的次生物质如木质素、异黄酮类植保素、黄酮类色素等合成密切相关, 在植物正常生长发育和抵御病菌侵害过程中起重要作用。

PAL催化L-苯丙氨酸裂解为反式肉桂酸和氨, 反式肉桂酸在290nm处有最大吸收值, 通过测定吸光值升高速率计算PAL活性。

### 二、自备材料

紫外分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板(UV板)、研钵、冰和蒸馏水。

### 三、粗酶液提取

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), 进行冰浴匀浆。10000g 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

### 四、操作步骤

**正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。**

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 290nm, 蒸馏水调零。

2、加样表 (EP 管或者 96 孔板中按顺序加样)

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	5	
试剂一	145	150
试剂二	40	40
混匀, 30°C 准确反应 30min。		
试剂三	10	10
混匀, 静置 10min 后, 290nm 处记录测定管吸光值 A1 和对照管吸光值 A2, $\Delta A = A1 - A2$ 。 对照管只要做一管。		

## 五、PAL 活力的计算

### A. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1、按照组织样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每mg组织蛋白在每mL反应体系中每min使290nm下吸光值变化0.1为一个酶活性单位。

$$\text{PAL (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div 0.1 \div T = 13.3 \times \Delta A \div \text{Cpr}。$$

2、按照组织样本鲜重计算

单位定义: 每g组织在每mL反应体系中每min使290nm下吸光值变化0.1为一个酶活性单位。

$$\text{PAL (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.1 \div T = 13.3 \times \Delta A \div W。$$

$V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积, 0.2mL;  $V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.005mL;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1 mL;  $T$ : 反应时间, 30 min;  $\text{Cpr}$ : 样本蛋白质浓度, mg/mL;  $W$ : 样本质量, g。

### B. 用96孔板测定的计算公式如下

1、按照组织样本蛋白浓度计算

单位定义: 每mg组织蛋白在每mL反应体系中每min使290nm下吸光值变化0.05为一个酶活性单位。

$$\text{PAL (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div 0.05 \div T = 26.6 \times \Delta A \div \text{Cpr}。$$

2、按照组织样本鲜重计算

单位定义: 每g组织在每mL反应体系中每min使290nm下吸光值变化0.05为一个酶活性单位。

$$\text{PAL (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.05 \div T = 26.6 \times \Delta A \div W。$$

$V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积, 0.2mL;  $V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.005mL;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1 mL;  $T$ : 反应时间, 30 min;  $\text{Cpr}$ : 样本蛋白质浓度, mg/mL;  $W$ : 样本质量, g。