

苯丙氨酸解氨酶试剂盒说明书

分光光度法

货号: BC0210**规格:** 50 管/48 样**产品简介:**

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。

试验中所需的仪器和试剂:

紫外分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1ml 比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

产品内容:

提取液: 液体 60mL×1 瓶, 4℃ 保存;

试剂一: 液体 40mL×1 瓶, 4℃ 保存;

试剂二: 粉剂×3 瓶, 4℃ 保存, 临用前每瓶加入 4mL 双蒸水充分溶解待用; 现配现用。

试剂三: 液体 2.5mL×1 瓶, 4℃ 保存;

操作步骤:**一、粗酶液提取:**

称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆。10000g, 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

二、测定操作表:

| 试剂名称 | 测定管 (μL) | 对照管 (μL) |
|--------------------|----------|----------|
| 样本 | 20 | |
| 试剂一 | 780 | 800 |
| 试剂二 | 200 | 200 |
| 混匀, 30℃ 准确水浴 30min | | |
| 试剂三 | 40 | 40 |

混匀, 静置 10min 后, 用对照管调零, 290nm 处记录测定管吸光值 A (A=A 测定管-A 对照管)。

PAL 活性计算:

(1) 按样本蛋白浓度计算:

单位的定义: 每 mg 组织蛋白在每 ml 反应体系中每分钟使 290nm 下吸光值变化 0.1 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PAL (U/mg prot)} = A \times \text{反应总体积 (1040}\mu\text{L)} \div \text{样本体积 (20}\mu\text{L)} \div \text{反应时间(30min)} \div 0.1 \div \text{蛋白浓度 (mg/mL)} = 17.3 \times A \div \text{蛋白浓度 (mg/mL)}$$

(2) 按样本鲜重计算:

单位的定义: 每 g 组织在每 ml 反应体系中每分钟使 290nm 下吸光值变化 0.1 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PAL (U/g 鲜重)} = A \times \text{反应总体积 (1040}\mu\text{L)} \div (\text{样本鲜重 (g)} \times \text{样本体积 (20}\mu\text{L)} \div \text{V 样总 (1mL)}) \div \text{反应时间(30min)} \div 0.1 = 17.3 \times A \div \text{样本鲜重 (g)}$$