

苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

货号: BC0210

规格: 50T/48S

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 石英比色皿、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：

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 290nm，蒸馏水调零。

2、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。

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