



苯丙氨酸解氨酶(PAL)测定试剂盒说明书(精简版)

(货号: A137-1-1 Phenylalanine Ammonialyase Kit, 分光光度法 50T/48 样)

一、测定意义:

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。

二、测定原理:

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,通过测定吸光值变化值计算PAL 活性。

三、仪器设备:

紫外分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1cm 光径石英比色皿

四、试剂组成:

试剂编号	试剂名称	试剂装量	保存条件
R1	提取液	60mLx1 瓶	4℃
R2	缓冲液	80mLx1 瓶	4℃
R3	底物液	20mlx1 瓶	4℃
R4	终止液	5mLx1 瓶	4℃

五、储存条件及有效期

试剂于 2~8℃ 保存可稳定 3 个月。

六、操作步骤:

1、粗酶液提取: 按组织质量 (g): 提取液体积 (ml) =1:9 的比例加入 **试剂一** (如 0.1g 组织加入 0.9ml 提取液),冰水浴匀浆, 10000rpm/min, 离心 10min, 取上清待测。

2、操作表:

试剂名称	测定管	空白管
粗酶液 (μL)	40	
R2: 缓冲液 (μL)	1480	1520
R3: 底物液 (μL)	400	400
混匀, 30℃ 准确水浴30min		
R4: 终止液 (μL)	80	80
混匀, 静置10min, 双蒸水调零, 波长290nm, 1cm光径石英比色皿, 测定各管吸光度值。(ΔA=A _{测定} -A _{空白})		

注: 空白管只需做 1-2 管。

七、单位定义与计算公式:

1、按样本鲜重计算:

单位定义: 每g组织在每mL反应体系中每min使290nm吸光度变化0.1为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{PAL活力 (U/g鲜重)} &= \frac{\Delta A}{0.1} \div \left(\frac{W}{V_{\text{样总}}} \times V_{\text{样}} \right) \times \frac{V_{\text{反总}}}{1} \div T \\ &= 16.6 \times \Delta A \div W \end{aligned}$$

注:W为样本重量,g;

$V_{\text{样总}}$ 为提取的粗酶液的总体积, mL;

$V_{\text{样}}$ 为测定时粗酶液的上样量, 0.04mL;

$V_{\text{反总}}$ 为反应体系总体积, 2mL;

T为反应时间, 30min。

2、按蛋白浓度计算:

单位定义: 每mg组织蛋白在每mL反应体系中每min使290nm吸光度变化0.1为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{PAL活力 (U/mgprot)} &= \frac{\Delta A}{0.1} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \times \frac{V_{\text{反总}}}{1} \div T \\ &= 16.6 \times \Delta A \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

注: C_{pr} 为粗酶液蛋白浓度, mgprot/mL (prot 指蛋白);

$V_{\text{样}}$ 为测定时粗酶液的上样量, 0.04mL;

$V_{\text{反总}}$ 为反应体系总体积, 2mL;

T为反应时间, 30min;