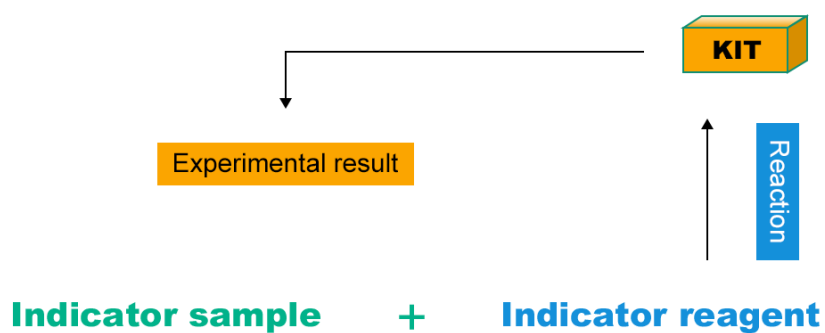


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0366

Size: 100T/96S

苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

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, 通过测定吸光值升高速率计算 PAL 活性。

三、需自备的仪器和用品:

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 (ZC-1036: UV 板)、研钵、冰和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前加入 4mL 蒸馏水充分溶解待用; 用不完的试剂 4℃保存一周
试剂三	液体 1mL×1 瓶	4℃保存	

五、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℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

六、测定步骤

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. 在 EP 管或 96 孔板中按顺序加入下列试剂

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℃ 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, $\Delta A = A1 - A2$ 。

注意: 对照管只要做一管

七、PAL 活性计算:

- 用微量石英比色皿测定的计算公式如下:

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

● 用 96 孔板 (UV 板) 测定的计算公式如下:

(1) 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 下吸光值变化 0.05 为一个酶活性单位。

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

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