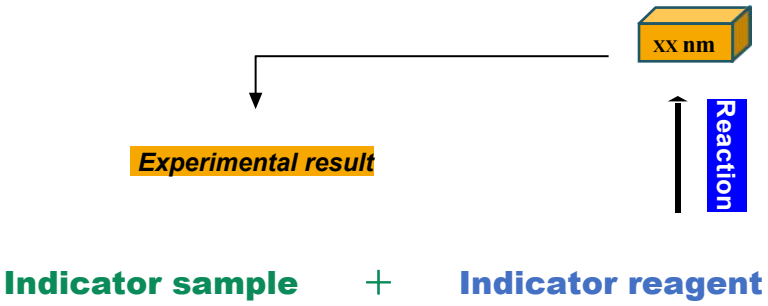
上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

货号：ZC-S0366　　规格：100 管/96 样

苯丙氨酸解氨酶（Phenylalnine ammonialyase，PAL）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

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。

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。

所需的仪器和用品

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(UV板)、研钵、冰和蒸馏水。

试剂的组成和配制

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	–

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。

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，△A=A1-A2。**注意：**对照管只要做一管

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。

PAL（U/mg prot）=ΔA×V 反总÷（Cpr×V 样）÷0.1÷T =13.3×ΔA÷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。

PAL（U/g 鲜重）＝ΔA×V 反总÷(W× V 样÷V 样总)÷0.1÷T =13.3×ΔA÷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。

PAL（U/mg prot）=ΔA×V 反总÷（V 样×Cpr）÷0.05÷T

=26.6×ΔA÷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0.05为一个酶活性单位。

PAL（U/g 鲜重）＝ΔA×V 反总÷(W× V 样÷V 样总)÷0.05÷T

=26.6×ΔA÷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。