

## 苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1054

产品规格: 100管/96样

### 产品说明:

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和限速酶, 在动物体内尚未发现。与一些重要的次生物质如木质素、类黄酮类植保素、黄酮类色素等合成密切相关, 在植物正常生长发育、抗病、抗逆反应中起重要作用。

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。

**注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

### 产品内容:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	4℃
试剂一	液体15mL×1瓶	4℃
试剂二	粉剂×1瓶	4℃
试剂三	液体1mL×1支	4℃

试剂二: 临用前每瓶加入4mL双蒸水充分溶解待用; 现配现用, 4℃可保存一周。

### 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UV板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

### 测定步骤:

#### 一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

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

#### 二、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. 操作表: (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	空白管
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

3. 混匀, 静置10min后, 290nm处记录测定管吸光值A1和空白管吸光值A2,  $\Delta A = A1 - A2$ 。(空白管只需做1-2次)



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

### 三、PAL活性计算

#### a、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定义为一个酶活性单位。

$$\text{PAL (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div 0.1 \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 13.33 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

##### (2) 按按样本质量计算

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定义为一个酶活性单位。

$$\text{PAL (U/g 质量)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div 0.1 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}} \times W) \div T = 13.33 \times \Delta A \div W$$

V样：加入样本体积，5 $\mu$ L=0.005mL；V提取：加入提取液体积，1mL；V反总：反应总体积，200 $\mu$ L=0.2mL；

T：反应时间，30min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

#### b、用96孔板测定的计算公式如下

##### (1) 按蛋白浓度计算

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0.05定义为一个酶活性单位。

$$\text{PAL (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div 0.05 \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 26.67 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

##### (2) 按按样本质量计算

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0.05定义为一个酶活性单位。

$$\text{PAL (U/g 质量)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div 0.05 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}} \times W) \div T = 26.67 \times \Delta A \div W$$

V样：加入样本体积，5 $\mu$ L=0.005mL；V提取：加入提取液体积，1mL；V反总：反应总体积，200 $\mu$ L=0.2mL；

T：反应时间，30min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com