

苯丙氨酸解氨酶(PAL)检测试剂盒(苯丙氨酸微板法)

产品简介：

苯丙氨酸解氨酶(L-phenylalanine ammonia-lyase, PAL)是催化直接脱掉L-苯丙氨酸上的氨而生成反式桂皮酸的酶,该酶多存在于高等植物、酵母、菌类可溶性部分物质,是1961年J.Koukol在大麦中发现的,推测其分子量约为30万,这是一个可把苯丙氨酸用于酚类化合物合成的酶。在组织中的活性可随外界因素而发生显著变化,用光照、病伤害、植物激素处理等会使活性显著增加,在多数情况下在组织中活性增加时,酶发生失活作用,这时组织中具有活性酶的量很快就会减少,据认为这种失活是与类蛋白质物质作用有关,测定细胞木质素合成途径中间代谢物及关键酶活性,可以探讨多种生物细胞发育过程中木质素沉积的代谢机理,为减少水果石细胞含量提高其品质提供依据。

Leagene 苯丙氨酸解氨酶(PAL)检测试剂盒(苯丙氨酸微板法)检测原理是以苯丙氨酸作为底物,在酶促反应的最适条件下采用每隔一定时间测定产物生成量的方法,于酶标仪290nm处检测吸光度,以吸光度变化所需酶量进行计算,主要用于植物组织的裂解液或匀浆液、血清等样品中内源性的苯丙氨酸解氨酶活性,尤其适用于检测水果中苯丙氨酸解氨酶活性。该试剂盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

名称	编号	TE0401 100T	Storage
试剂(A): PAL Lysis Buffer		250ml	4°C 避光
试剂(B): PAL Assay Buffer		5ml	4°C 避光
试剂(C): PAL 终止液		1.2ml	RT
使用说明书		1份	

自备材料：

- 1、蒸馏水
- 2、电子天平、研钵或匀浆器、离心管或试管
- 3、低温离心机、恒温箱或水浴锅、酶标仪、酶标板

操作步骤(仅供参考)：

1、准备样品：

- ①植物样品：取1g经胁迫处理的植物组织或水果中层果肉,加入2.5ml PAL Lysis Buffer,冰浴情况下充分捣碎研磨或匀浆,离心15~20min,留取上清液,-20°C冻存,

用于苯丙氨酸解氨酶的检测。

②血浆、血清和尿液样品：血浆、血清按照常规方法制备后可以直接用于该试剂盒的测定，-20℃冻存，用于苯丙氨酸解氨酶的检测。

③细胞或组织样品：取恰当细胞或组织裂解液，如果有必要需进行适当匀浆，离心15~20min，取上清液，-20℃冻存，用于苯丙氨酸解氨酶的检测。

④高活性样品：如果样品中含有较高活性的苯丙氨酸解氨酶，可以使用蒸馏水或 PAL Lysis Buffer 稀释进行恰当的稀释。

- 2、PAL 加样：取 96 孔板，按照下表设置对照孔、测定孔，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的 PAL 活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置 2 平行孔，求平均值。

加入物(μl)	对照孔	测定孔
蒸馏水	150	100
待测样品	50	50
PAL Assay Buffer	—	50

- 3、PAL 检测：以对照孔为对照(调零)，酶标仪立即测定 290nm 处测定孔的吸光度(记为 $A_{\text{测定}0}$)；40℃准确孵育，立即加入 10μl PAL 终止液终止反应(备选方案)，以对照孔为对照调零，酶标仪立即测定 290nm 处测定孔的吸光度(记为 $A_{\text{测定}1}$)。

注意：加入 PAL 终止液终止反应为非必须步骤，可 37℃准确孵育后直接以对照孔为对照调零，酶标仪立即测定 290nm 处测定孔的吸光度。

计算：

PAL 活性单位的定义：在该实验条件下，每小时吸光度变化 0.01 所需酶量为一个活性单位。

$$\text{组织样品 PAL(U)} = \{(A_{\text{测定}1} - A_{\text{测定}0}) \times V_T\} / (W \times V_S \times 0.01 \times t)$$

$$\text{液体样品 PAL(U)} = (A_{\text{测定}1} - A_{\text{测定}0}) / (0.01 \times t)$$

式中： $A_{\text{测定}1}$ = 40℃孵育 1h 后测定孔的吸光度

$A_{\text{测定}0}$ = 加入 PAL Assay buffer 后立即检测的测定管吸光度

W = 组织样本的重量(g)

V_T = 提取酶液的总体积(ml)

V_S = 测定时所用酶液体积(ml)

t = 反应时间(h) = 1

注意事项：

- 1、苯丙氨酸解氨酶在活性测定前，样品要进行适度或过度胁迫再进行检测，胁迫程度达

不到，计算结果可能会出现负值。

- 2、待测样品中不能含有酶抑制剂，同时需避免反复冻融。
- 3、获得上清液为 PAL 酶液，应尽快检测，亦可-20℃保存。
- 4、如果没有可测定紫外区的酶标仪和酶标板，也可以使用紫外分光光度计和石英比色皿，但应注意比色杯的最小检测体积。
- 5、每次检测指标不宜过多，否则操作时间不一，有可能导致样本间的差异。
- 6、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 7、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：6个月有效；低温运输，按要求保存。