

苯丙氨酸解氨酶(PAL)试剂盒说明书

(货号PB1005F48 分光法 48样)

有效期：3个月

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、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

试剂的组成和配制

提取液: 液体 60mL×1 瓶, 4℃保存。

试剂一: 液体 40mL×1 瓶, 4℃保存。

试剂二: 粉剂 ×3 瓶, 4℃保存。临用前每瓶加入 4mL 蒸馏水充分溶解待用; 用不完的试剂 4℃保存;

试剂三: 液体 5mL×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

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	20	
试剂一	780	800
试剂二	200	200

混匀, 30℃ 准确水浴 30min

试剂三	40	40
-----	----	----

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

PAL 活性计算

(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。

$$\text{PAL (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div 0.1 \div T = 17.3 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算

单位定义：每 g 组织每 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。

$$\text{PAL (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.1 \div T = 17.3 \times \Delta A \div W$$

V 反总：反应体系总体积， 1.04mL； V 样：加入样本体积， 0.02mL； 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；