

## 苯丙氨酸解氨酶（Phenylalanine ammonia-lyase, PAL）试剂盒说明书

微量法 100 管/96 样

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。

### 组成：

产品名称	SR014-100T/96S	Storage
提取液：液体	100ml	4°C
试剂一：液体	15ml	4°C
试剂二：粉剂	1 瓶	4°C
试剂三：液体	1ml	4°C
说明书	一份	

试剂二：粉剂×1 瓶，4°C 保存；临用前加入 4ml 蒸馏水充分溶解待用；用不完的试剂 4°C 保存；

### 自备仪器和用品：

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。

### 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°C 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、准备 96 孔 UV 板一块（非普通酶标板，普通酶标板只能透过可见光，不能透过紫外光，检测波长小于 340nm 务必使用 UV 板）。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线：0518-81263339

官网：<http://www.bio149.com>

3、在 EP 管或 96 孔 UV 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°C 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

**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。

$$\text{PAL (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div 0.1 \div T = 13.3 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

(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 0.1 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, 30 min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/ml; W: 样本质量, g。

