

苯丙氨酸解氨酶（PAL）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1044BKM

保存：4℃保存 12 个月

规格：48T/48S 96T/96S

适用样本：植物组织

产品简介

苯丙氨酸解氨酶(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、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、抗病、抗逆反应中起重要作用。 本试剂盒提供了一种简单易用的比色法, 用于分析生物样品中 PAL 的活性。其原理是苯丙氨酸解氨酶(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。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃
反应缓冲液	7.5mL	15mL	4℃
试剂一	1	1	4℃
试剂二	0.5mL	1mL	4℃

自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测 290nm 处的吸光度）及恒温培养箱

96 孔 UV 板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水

匀浆器

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；4℃保存。

反应缓冲液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂一：临用前配制，加入去离子水充分溶解（48T 加入 2mL 去离子水；96T 加入 4mL 去离子水），未用完的已溶解的试剂一可 4℃保存一周，或分装-20℃长期保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

样本制备

称取约 0.1g 植物组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。10,000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 Bradford 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

- 酶标仪或紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 290nm，紫外分光光度计去离子水调零。
- 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中按顺序加入下列试剂：

	测定孔 (μL)	空白孔 (μL)
样本	5	0
反应缓冲液	145	150
试剂一	40	40
混匀, 30℃反应 30min		
试剂二	10	10

3. 混匀, 静置 10min 后, 290nm 处记录测定孔吸光值 $A_{\text{测}}$ 和空白孔吸光值 $A_{\text{空}}$, $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测}} - A_{\text{空}}$ 。

注意: 空白孔只需做一个。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 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.001 可适当加大样本量。如果 ΔA 大于 0.5, 样本可用提取液进一步稀释, 计算结果乘以稀释倍数, 或减少提取用样本量。

结果计算

A. 使用 96 孔板测定的计算公式

1. 按样本鲜重计算

单位的定义: 每 g 组织在反应体系中每 min 使 290nm 下吸光值变化 0.05 定义为一个酶活性单位。

$$\text{PAL (U/g 鲜重)} = \Delta A_{\text{测}} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div 0.05 \div T = 26.67 \times \Delta A \div W$$

2. 按样本蛋白浓度计算:

单位的定义: 每 mg 组织蛋白在反应体系中每 min 使 290nm 下吸光值变化 0.05 定义为一个酶活性单位。

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

B. 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

1. 按样本鲜重计算

单位的定义: 每 g 组织在反应体系中每 min 使 290nm 下吸光值变化 0.1 定义为一个酶活性单位。

$$\text{PAL (U/g 鲜重)} = \Delta A_{\text{测}} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div 0.1 \div T = 13.33 \times \Delta A \div W$$

2. 按样本蛋白浓度计算:

单位的定义: 每 mg 组织蛋白在反应体系中每 min 使 290nm 下吸光值变化 0.1 定义为一个酶活性单位。

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

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 200μL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 5μL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; W : 样品质量, g; T : 反应时间, 30min; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

相关产品:

PMK1036BKM 超氧化物歧化酶 (SOD) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1048BKM 二胺氧化酶 (DAO) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1037BKM 过氧化氢酶 (CAT) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

