

## 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。

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	ADS042TE0	Storage
	100T	
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，4℃ 10000r/min离心15~20min，留取上清液，-20℃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，4℃10000r/min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1h，立即加入10μlPAL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1h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、待测样品中不能含有酶抑制剂，同时需避免反复冻融。
- 2、获得上清液为PAL酶液，应尽快检测，亦可-20℃保存。
- 3、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。
- 4、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。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：**6个月。低温运输，按要求保存。