

苯丙氨酸解氨酶(PAL)检测试剂盒(苯丙氨酸微板法)

产品编号: MA1509

规格: 100T

产品组成和保存/运输条件

产品组成	MA1509-1 100T	保存条件	有效期	运输条件
PAL Lysis Buffer	250mL	2-8℃, 避光	自生产之日起 6 个月	湿冰运输 (按季节)
PAL Assay Buffer	5mL	2-8℃, 避光		
PAL 终止液	1.2mL	RT		
说明书	1 份			

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, PAL Assay Kit)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。

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

使用方法

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, 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 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 个平行孔，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 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：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。

4. 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. 所有试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
8. 本产品仅限科研实验使用，禁止用于临床、食品、化妆品等非科研场景。

S260801

