

## 苯丙氨酸解氨酶(PAL)检测试剂盒(苯丙氨酸微板法)

### 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。

源叶生物苯丙氨酸解氨酶(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。

### 组成:

名称 \ 编号	R30304	Storage
试剂(A): PAL Lysis Buffer	100T 250ml	4℃ 避光
试剂(B): PAL Assay Buffer	5ml	4℃ 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( $\mu$ l)	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 10 $\mu$ l PAL 终止液终止反应(备



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

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°C 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°C 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°C 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 个月有效; 4°C 运输, 4°C 保存。