

植物苯丙氨酸解氨酶（PAL）检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHA9-C24	苯丙氨酸解氨酶(PAL)试剂盒	24T	常量法
PMHA9-C48		48T	常量法

一、测定意义

苯丙氨酸解氨酶是植物体苯丙烷类代谢的关键酶和限速酶，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。在植物的生长发育、色泽形成、抗病抗逆等方面具有重要作用。

二、测定原理

苯丙氨酸解氨酶（PAL）催化底物，生成反式肉桂酸，该产物在波长290nm处有最大吸收峰，通过测定其吸光度的变化来计算苯丙氨酸解氨酶活性。

三、试剂组成

试剂名称	试剂装量（24T）	试剂装量（48T）	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	液体 40mL×1 瓶	液体 80mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	4℃保存
试剂二：临用前每瓶加入 6 mL 双蒸水充分溶解待用；现配现用，4℃可保存一周。			
试剂三	液体 2.5mL×1 瓶	液体 5mL×1 瓶	4℃保存

四、操作步骤

样本前处理

植物组织提取液的制备：取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，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 样本，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 290nm，用蒸馏水调零。
- 2、试剂回复至常温；
- 3、操作表：

试剂	对照管	测定管
----	-----	-----

样本 (μL)	20	20
试剂一 (μL)	780	780
试剂二 (μL)	-	200
双蒸水 (μL)	200	-
混匀, 30°C 准确反应30min		
试剂三 (μL)	40	40
混匀, 静置 10min, 波长 290nm 处记录测定管吸光度值 A1 和对照管吸光度值 A ₂ , ΔA=A ₁ -A ₂		

五、植物样本中苯丙氨酸解氨酶活性计算

(1) 按样本蛋白浓度计算:

单位的定义: 每 mg 组织蛋白在每 mL 反应体系中每分钟使 290nm 下吸光值变化 0.1 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PAL (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div 0.1 \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T$$

(2) 按样本质量计算:

单位的定义: 每 g 组织在每 mL 反应体系中每分钟使 290nm 下吸光值变化 0.1 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PAL (U/g 质量)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div 0.1 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}} \times W) \div T$$

V_样: 加入样本体积, 20μL=0.02mL;

V_{反应}: 反应总体积, 1.040mL;

V_{提取}: 加入提取液的体积, 1mL;

T: 反应时间, 30min;

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;

W: 样本质量, g。

六、注意事项

- 1、样本测试前请选取 2 个预期差异最大的样本, 稀释成不同浓度进行预试, 以选取最佳取样浓度
- 2、准备好的样品如果当天测定, 可以冰浴保存; 如果当天不能完成测定, 可以-70°C 冻存, 但建议尽量当天完成测定。
- 3、波长 290nm 读数, 必须使用石英比色皿。

七、公司介绍

陌凡生物科技有限公司是一家专业从事转基因检测、食品安全以及动植物疫病检测为核心业务的生物科技公司。能够为客户提供动植物疫病检测试剂、小分子抗原抗体、植物激素、

植物抗体、重组蛋白等优质产品。自主研发了涵盖分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物医学等领域的各种试剂盒。产品覆盖面广，品质可靠。