

## 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-M48	苯丙氨酸解氨酶(PAL)试剂盒	48T	微量法
PMHA9-M96		96T	

### 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（48T）	试剂装量（96T）	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 20mL×1 瓶	液体 40mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×1 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、酶标仪预热 30min 以上，调节波长到 290nm。
- 2、试剂回复至常温；
- 3、操作表：（样本和试剂加在 UV 板上）

试剂	对照管	测定管
样本 (μL)	10	10
试剂一 (μL)	140	140
试剂二 (μL)	-	40
双蒸水 (μL)	40	-
混匀, 30°C 准确反应30min		
试剂三 (μL)	10	10
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 <sub>2</sub> , $\Delta A = A_1 - A_2$ .		

## 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 0.05 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PAL (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div 0.05 \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T$$

(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 0.05 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PAL (U/g 质量)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div 0.05 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}} \times W) \div T$$

V<sub>样</sub>: 加入样本体积, 10μL=0.01mL;

V<sub>反应</sub>: 反应总体积, 0.2mL;

V<sub>提取</sub>: 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, 进行预试样, 以选取最佳取样浓度。部分样本活性较低, 可以适当增加样本取样量。计算时相应修改取样量即可。

2、波长 290nm 读数, 必须使用 UV 板, 不能用常规 96 孔板。