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:

编号 / 名称	GCTE0401 100T	Storage
试剂(A): PAL Lysis Buffer	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 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 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 $A_{测定0}$)；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 $A_{测定1}$)。

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。

组织样品 PAL(U)=$\{(A_{测定1}-A_{测定0})\times V_T\}/(W\times V_S\times 0.01\times t)$

液体样品 PAL(U)=$(A_{测定1}-A_{测定0})/(0.01\times t)$

式中：$A_{测定1}$=40℃孵育 1h 后测定孔的吸光度

$A_{测定0}$=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、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

7、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期： 6 个月有效；低温运输，按要求保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCCC0007	磷酸缓冲盐溶液(10×PBS,无钙镁)
GCCM0004	LB 培养基
GCDC0032	Masson 三色染色液
GCDF0135	组织细胞固定液(4% PFA)
GCNR0001	DEPC 处理水(0.1%)
GCPS0013	RIPA 裂解液(强)
GCTC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)

