

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	

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	2~8℃保存
试剂一	液体 40mL×1 瓶	液体 80mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	2~8℃保存
试剂二的配制：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	2~8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

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 组织，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，置冰上待测。

测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 290nm，蒸馏水调零。
- 2、试剂回复至常温；
- 3、操作表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	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℃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 $A_{\text{测定}}$ 和对照管吸光度值 $A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$		

五、植物样本中苯丙氨酸解氨酶活性计算：

- 1、按样本质量计算：

单位定义：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。

计算公式：
$$\text{PAL (U/g)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div 0.1 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}} \times W) \div T = 17.33 \times \Delta A \div W$$

- 2、按蛋白浓度计算：

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。

计算公式：
$$\text{PAL (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div 0.1 \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 17.33 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，1.04mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02mL；

$V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，30 min；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℃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。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】**【说明书核准及修改日期】**

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日