

苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性检测试剂盒 (苯丙氨酸微板法)

产品货号: BA1565

产品规格: 100T

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。

尚宝苯丙氨酸解氨酶(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,该试剂盒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,不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成

试剂名称	100T	保存条件
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	室温

自备材料:

1. 蒸馏水
2. 研钵或匀浆器
3. 离心管或试管
4. 低温离心机
5. 水浴锅或恒温箱
6. 酶标仪、酶标板
7. 电子天平

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,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本试剂盒的测定,-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,离心15~20min,取上清液,-20℃冻存,用于苯丙氨酸解氨酶的检测。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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：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测定：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°C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 $A_{\text{测定}1}$)。

注意：加入PAL终止液终止反应不是必须步骤，可37°C准确孵育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) = $\{(A_{\text{测定}1} - A_{\text{测定}0}) \times V_T\} / (W \times V_S \times 0.01 \times t)$

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后立即检测的测定孔吸光度

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°C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。4°C运输，4°C保存。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com