

苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 检测试剂盒 (苯丙氨酸比色法)

产品货号: BA1566

产品规格: 50T

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(苯丙氨酸比色法)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,于分光光度计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	50T	保存条件
试剂(A): PAL Lysis buffer	250ml	4℃, 避光
试剂(B): PAL Assay buffer	30ml	4℃, 避光
试剂(C): PAL终止液	5ml	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. 比色杯
7. 分光光度计

操作步骤 (仅供参考):

1. 准备样品:

①植物样品:取2g植物组织或水果中层果肉,加入5ml PAL Lysis buffer,冰浴情况下充分捣碎研磨或匀浆,4℃ 10000g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,4℃ 10000g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：按照下表设置对照管、测定管，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平行管，求平均值。

加入物 (ml)	对照管	测定管
蒸馏水	1.5	1.0
待测样品	0.5	0.5
PAL Assay buffer	-	0.5

3. PAL测定：以对照管为对照(调零)，比色杯光径1.0cm，分光光度计立即测定290nm处测定管的吸光度(记为 $A_{\text{测定0}}$)。40℃准确孵育1h，立即加入0.1ml PAL终止液终止反应(备选方案)，以对照管为对照(调零)，分光光度计立即测定290nm处测定管的吸光度(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℃准确孵育1h后直接以对照管为对照(调零)，比色杯光径1.0cm，分光光度计立即测定290nm处测定管的吸光度(记为 $A_{\text{测定1}}$)。

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。

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

式中： $A_{\text{测定1}}$ = 40℃孵育1h后测定管的吸光度

$A_{\text{测定0}}$ = 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

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

式中： $A_{\text{测定1}}$ = 40℃孵育1h后测定管的吸光度

$A_{\text{测定0}}$ = 加入PAL Assay buffer后立即检测的测定管吸光度

t = 反应时间(h) = 1

注意事项：

- 待测样品中不能含有酶抑制剂，同时需避免反复冻融。
- 获得上清液为PAL酶液，应尽快检测，亦可-20℃保存。
- 如果没有分光光度计，也可以使用普通的酶标仪测定，但应注意酶标仪的最大检测体积。
- 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。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：6个月有效。4℃运输，4℃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