苯丙氨酸解氨酶（PAL）活性检测试剂盒说明书

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。

3. 准备 96 孔 UV 板一块（非普通酶标板，普通酶标板只能透过可见光，不能透过紫外光， 检测波长小于 340 nm 务必使用 UV 板）。

4. 本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	100 mL×1	4℃	
试剂一	15 mL×1	4℃	
试剂二	粉剂×1	4℃	临用前加入 4 mL 蒸馏水充分溶解待用；用不完的试剂 4℃保存
试剂三	1 mL×1	4℃	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板（**UV** 板）、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1、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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液），进行冰浴匀浆。10000 g ，4℃离心 10 min，置冰上，上清为待测样本。

2. 细胞/细菌：按照细胞/细菌数量（10^4个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞/细菌加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞/细菌（功率 200 W，超声 3 秒，间隔 10 秒，重复 30 次）；然后 10000g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

3. 血清、血浆、果汁等液体样本：直接测定。

五、测定步骤：

1.酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 290 nm 处。

2.在 96 孔 UV 板中依次加入：

	测定管	对照管
样本（μL）	5	-
试剂一（μL）	145	150
试剂二（μL）	40	40
充分混匀，30℃准确反应 30 min。		
试剂三（μL）	10	10
混匀，静置 10 min 后，测定 A290 ，记 A 测定和 A 对照，ΔA=A 测定-A 对照，对照管只做 2~3 管。		

六、计算：

1. 按照样本质量计算：

单位定义：每 g 组织在每 mL 反应体系中每 min 使 290nm 下吸光值变化 0.05 为一个酶活性单位 U。

苯丙解氨酶（**U/g** 鲜重）=ΔA×V 反总÷（W× V 样÷V 样总）÷0.05÷T =26.6×ΔA÷W

2. 按照蛋白质浓度计算（需另测蛋白浓度）：

单位定义：每 mg 蛋白在每 mL 反应体系中每 min 使 290 nm 下吸光值变化 0.05 为一个酶活性单位 U。

苯丙解氨酶（**U/mg prot**）=ΔA×V 反总÷（Cpr× V 样÷V 样总）÷0.05÷T =26.6×ΔA÷Cpr

3. 按照细胞/细菌计算

单位定义：每 10^4 个细胞/细菌在每 mL 反应体系中每 min 使 290 nm 下吸光值变化 0.05 为一个酶活性单位 U。

苯丙解氨酶（**U/10^4cell**）=ΔA×V 反总÷（N× V 样÷V 样总）÷0.05÷T =26.6×ΔA÷N

4. 按照样品体积计算

单位定义：每 mL 样品在每 mL 反应体系中每 min 使 290 nm 下吸光值变化 0.05 为一个酶活性单位 U。

苯丙解氨酶（**U/mg prot**）=ΔA×V 反总÷ V 样÷0.05÷T =26.6×ΔA

V 反总：反应体系总体积，0.2 mL； V 样：加入样本体积，0.005 mL；V 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；N：细胞/细菌数量（万个）

七、产品简介

苯丙解氨酶广泛存在于各种植物和少数微生物中，是植物体内苯丙烷类代谢的关键酶，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，在植物正常生长发育和抵御病菌侵害过程中起重要作用。