CheKine™ 苯丙氨酸解氨酶（PAL）活性检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1160　　规格: 48 T/48 S　96 T/96 S　　批号：见产品标签

	适用样本：植物组织
	保质期：4℃保存 6 个月

01 背景与原理

苯丙氨酸解氨酶（Phenylalanine ammonia-lyase，PAL）（EC 4.3.1.5）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和限速酶，在动物体内尚未发现。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、抗病、抗逆反应中起重要作用。

本试剂盒检测原理是 PAL 催化 L-苯丙氨酸裂解为反式肉桂酸和氨，反式肉桂酸在 290 nm 处有最大吸收值，通过测定吸光值升高速率计算 PAL 活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	120 mL	4℃
Assay Buffer	9 mL	18 mL	4℃
Substrate	Powder×2 vials	Powder×4 vials	4℃
HCl	0.6 mL	1.2 mL	4℃

***请在实验前检查各组分的量。**

***各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。**

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 290 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	UV 板
试剂	去离子水	试剂配制用
其他	匀浆器（组织样本）、恒温箱、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- **正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。**
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，**请在实验全程做好生物安全防护**，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

注意：本试剂盒组分均有一定的刺激性，建议在使用过程中做好个人防护。

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Assay Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Working Substrate	临用前配制；取一支加入 1.2 mL 去离子水充分溶解	未用完的试剂可 4℃保存一周，单支可以满足 30 次反应
HCl	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

- **植物组织**：称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL Extraction Buffer，进行冰浴匀浆。10000 g，4℃离心 10 min，取上清，置冰上待测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 290 nm。
2. **检测体系配制**：空白孔只需做一个。在 96 孔 UV 板中按照如下方式操作：

试剂	测定孔(μL)	空白孔(μL)
样本	5	0
Assay Buffer	145	150
Working Substrate	40	40
	混匀，30℃反应 30 min	
HCl	10	10

3. **吸光度检测**：混匀，静置 10 min 后测定 290 nm 处吸光值，分别记为 $A_{测定}$与 $A_{空白}$。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官网[https://www.abbkine.cn] > 进入“**技术中心**”> 查找“**在线计算器**”**工具**。

06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算$\Delta A=A_{测定}-A_{空白}$

2. 样本 PAL 活性计算

- 按样本质量计算

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每 min 使 290 nm 下吸光值变化 0.05 定义为一个酶活性单位。

$PAL\ (U/g)=\Delta A\times V_{反总}\div(V_{样}\times W)\div0.05\div T$**$=26.67\times\Delta A\div W$**

- 按蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每 min 使 290 nm 下吸光值变化 0.05 定义为一个酶活性单位。

$PAL\ (U/mg\ prot)=\Delta A\times V_{反总}\div(Cpr\times V_{样})\div0.05\div T$**$=26.67\times\Delta A\div Cpr$**

$V_{反总}$：反应体系总体积，200 μL；$V_{样}$：加入样本体积，5 μL；W：样品质量，g；T：反应时间，30 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL。

07 结果展示

示例-1：取 0.1 g 拟南芥叶，按照测定步骤操作，用 96 孔 UV 板进行检测。测得$\Delta A=A_{测定}-A_{空白}=0.115-0.050=0.065$。按样本质量计算得：$PAL\ (U/g)=26.67\times\Delta A\div W=17.336$ U/g。

08 FAQ

- **检测得到的样本ΔA 过高或者过低怎么办?**

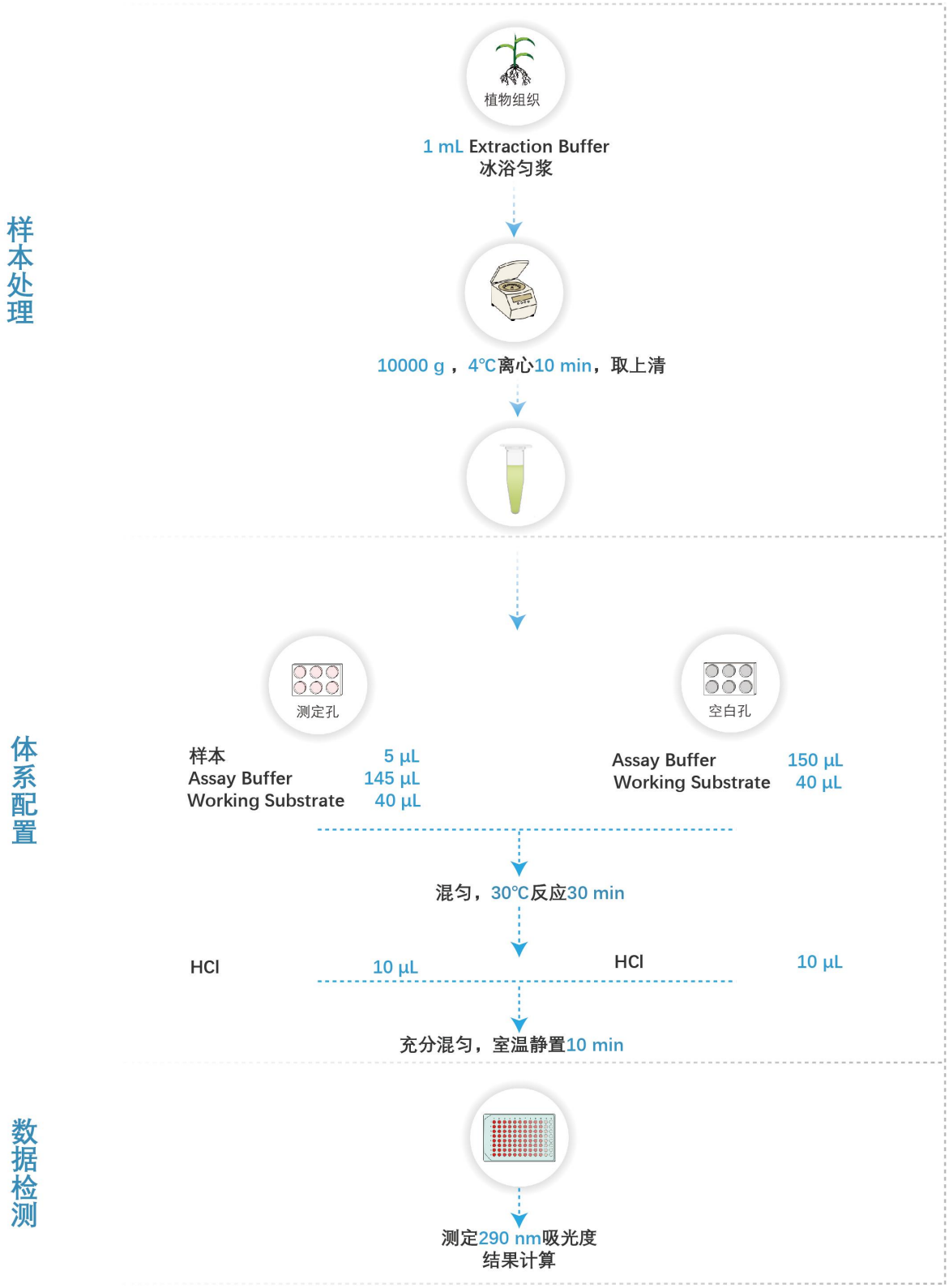
如果ΔA 小于 0.01 可适当加大样本量。如果ΔA 大于 0.5，样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释，或减少提取用样本量，再重新进行实验。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1030	CheKine™ 超氧化物歧化酶（SOD）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1040	CheKine™ 过氧化氢酶（CAT）活性分析试剂盒（微量法）
KTB1140	CheKine™ 多酚氧化酶（PPO）活性检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 苯丙氨酸解氨酶（PAL）活性检测流程示意图

（Abbkine 货号：KTB1160）



V1.0