

## 苯丙氨酸解氨酶（PAL）活性检测试剂盒说明书

微量法

**注意：**本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0215

规格：100T/96S

**产品组成：**使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

| 试剂名称 | 规格            | 保存条件   |
|------|---------------|--------|
| 提取液  | 液体 110 mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂一  | 液体 15 mL×1 瓶  | 2-8℃保存 |
| 试剂二  | 粉剂×2 瓶        | 2-8℃保存 |
| 试剂三  | 液体 1 mL×1 支   | 2-8℃保存 |

溶液的配制：

- 1、试剂二：临用前取 1 瓶加入 2.5 mL 蒸馏水充分溶解待用；现配现用，2-8℃可保存 2 周。

**产品说明：**

PAL（EC4.3.1.5）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、类黄酮类植保素、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。

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

**注意：**实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

**需自备的仪器和用品：**

紫外分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

**操作步骤：**

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆。10000g 4℃离心 10 分钟，取上清，置冰上待测。

二、测定步骤

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 290nm，分光光度计蒸馏水调零。

2、操作表：（在 EP 管或 96 孔板中按顺序加入下列试剂）

| 试剂名称（μL）          | 测定管 | 空白管 |
|-------------------|-----|-----|
| 样本                | 5   | -   |
| 试剂一               | 145 | 150 |
| 试剂二               | 40  | 40  |
| 混匀，30℃ 准确反应 30min |     |     |
| 试剂三               | 10  | 10  |





混匀，静置 10min 后，290nm 处记录测定管吸光值 A1 和空白管吸光值 A2， $\Delta A = A1 - A2$ 。（空白管只需做 1-2 次）

### 三、PAL 活性计算

#### a、用微量石英比色皿测定的计算公式如下

##### (1) 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 定义为一个酶活性单位。

$$\text{PAL 活性 (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div 0.1 \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 13.33 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

##### (2) 按按样本质量计算

单位的定义：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 定义为一个酶活性单位。

$$\text{PAL 活性 (U/g 质量)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div 0.1 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}} \times W) \div T = 13.33 \times \Delta A \div W$$

V 样：加入样本体积， $5\mu\text{L} = 0.005\text{mL}$ ；V 提取：加入提取液体积，1mL；V 反总：反应总体积， $200\mu\text{L} = 0.2\text{mL}$ ；

T：反应时间，30min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

#### b、用 96 孔 UV 板测定的计算公式如下

##### (1) 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 0.05 定义为一个酶活性单位。

$$\text{PAL 活性 (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div 0.05 \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 26.67 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

##### (2) 按按样本质量计算

单位的定义：每 g 组织在每 mL 反应体系中每分钟使 290nm 下吸光值变化 0.05 定义为一个酶活性单位。

$$\text{PAL 活性 (U/g 质量)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div 0.05 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}} \times W) \div T = 26.67 \times \Delta A \div W$$

V 样：加入样本体积， $5\mu\text{L} = 0.005\text{mL}$ ；V 提取：加入提取液体积，1mL；V 反总：反应总体积， $200\mu\text{L} = 0.2\text{mL}$ ；

T：反应时间，30min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

### 相关发表文献：

[1] Chen Y, Li D, Zhang X, Ma Q, Xu Y, Luo Z. Azacytidine-induced hypomethylation delays senescence and coloration in harvested strawberries by stimulating antioxidant enzymes and modulating abscisate metabolism to minimize anthocyanin overproduction. *Food Chem.* 2023 May 1;407:135189. doi: 10.1016/j.foodchem.2022.135189. Epub 2022 Dec 10. PMID: 36525805.

[2] Jiang N, Wang L, Jiang D, Wang M, Yu H, Yao W. Combined metabolome and transcriptome analysis reveal the mechanism of eugenol inhibition of *Aspergillus carbonarius* growth in table grapes (*Vitis vinifera* L.). *Food Res Int.* 2023 Aug;170:112934. doi: 10.1016/j.foodres.2023.112934. Epub 2023 May 3. PMID: 37316002.

[3] Zeng J, Chen C, Chen M, Chen J. Comparative transcriptomic and metabolomic analyses reveal the delaying effect of naringin on postharvest decay in citrus fruit. *Front Plant Sci.* 2022 Nov 30;13:1045857. doi: 10.3389/fpls.2022.1045857. PMID: 36531365; PMCID: PMC9748555.

[4] Zhu F, Fang Y, Wang Z, Wang P, Yang K, Xiao L, Wang R. Salicylic acid remodeling of the rhizosphere microbiome induces watermelon root resistance against *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* infection. *Front Microbiol.* 2022 Sep 23;13:1015038. doi: 10.3389/fmicb.2022.1015038. PMID: 36212858; PMCID: PMC9539938.

[5] Xu W, Yang Q, Yang F, Xie X, Goodwin PH, Deng X, Tian B, Yang L. Evaluation and Genome Analysis of *Bacillus subtilis* YB-04 as a Potential Biocontrol Agent Against *Fusarium Wilt* and Growth Promotion Agent of Cucumber. *Front Microbiol.* 2022 Jun 9;13:885430. doi: 10.3389/fmicb.2022.885430. PMID: 35756052; PMCID: PMC9218633.



**参考文献:**

- [1] Aydaş S B, Ozturk S, Aslım B. Phenylalanine ammonia lyase (PAL) enzyme activity and antioxidant properties of some cyanobacteria isolates[J]. Food chemistry, 2013, 136(1): 164-169.
- [2] Rosler J, Krekel F, Amrhein N, et al. Maize phenylalanine ammonia-lyase has tyrosine ammonia-lyase activity[J]. Plant physiology, 1997, 113(1): 175-179.
- [3] Cheng G W, Breen P J. Activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 1991, 116(5): 865-869.

**相关系列产品:**

- BC0190/BC0195 多酚氧化酶 (PPO) 活性检测试剂盒  
BC0170/BC0175 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性检测试剂盒

