

酪氨酸酶活性检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1806

产品规格：50T

产品简介：

酪氨酸酶（tyrosinase：EC1.14.18.1）是一种单酚单加氧酶，是具有双功能的含铜糖蛋白，广泛存在于植物、酵母和动物组织中。酪氨酸酶是生物体合成黑色素的关键酶，也是引起果蔬酶促褐变的主要因素，同时也对昆虫的免疫及生长有重要影响。

酪氨酸酶催化L-多巴生成多巴色素，其在475nm下有特征吸收峰，进而测定出酪氨酸酶的活性。

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×3瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂一：临用前每瓶加入15mL提取液充分溶解待用，现配现用。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、冰、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）

1. 组织：称取约0.1g组织，加入1mL提取液进行冰浴匀浆。12000g，4℃离心20min，取上清，置冰上待测。
2. 细胞或细菌样本的制备：先收集细胞或细菌样本到离心管内，弃上清，按照每500万细胞或细菌加入1mL提取液，超声波破碎细菌或细胞（功率20%，超声3s，间隔10s，重复30次）。12000g，4℃离心20min，取上清，置冰上待测。
3. 血清（浆）：直接检测。

二、测定操作

1. 分光光度计预热30min，波长调至475nm。蒸馏水调零。
2. 加样表（在1mL玻璃比色皿中分别加入）

试剂名称（ μL ）	测定管
试剂一	900
样本	100

充分混匀后立即测定10s时在475nm下的吸光度，记为A1，之后迅速将其放入37℃（哺乳动物）或25℃（其他物种）水浴或培养箱中3min。然后迅速拿出擦净后测定190s时的吸光度，记为A2。计算 $\Delta A=A2-A1$ 。

三、酪氨酸酶活计算

1. 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每mg组织蛋白每分钟催化生成1nmol多巴色素的酶量定义为一个酶活性单位。

$$\text{酪氨酸酶 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 90.09 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

2. 按样本质量计算:

单位的定义: 每g组织每分钟催化生成1nmol多巴色素的酶量定义为一个酶活性单位。

$$\text{酪氨酸酶 (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 90.09 \times \Delta A \div W$$

3. 按细胞或细菌数量计算:

单位的定义: 每 10^4 个细胞或细菌每分钟催化生成1nmol多巴色素的酶量定义为一个酶活性单位。

$$\text{酪氨酸酶 (U/}10^4\text{cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (500 \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.18 \times \Delta A$$

4. 按血清(浆)体积计算:

单位的定义: 每mL血清(浆)每分钟催化生成1nmol多巴色素的酶量定义为一个酶活性单位。

$$\text{酪氨酸酶 (U/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div V_{\text{样}} \div T = 90.09 \times \Delta A$$

V反总: 反应总体积, 10^{-3} L; ϵ : 多巴色素的摩尔消光系数: 3.7×10^4 L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; 10^9 : 单位换算系数, $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$; V样: 加入的样本体积, 0.1mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; V提取: 提取液体积, 1mL; 500: 细胞或细菌总数, 500万; T: 反应时间, 3min。

注意事项:

1. 当 ΔA 大于0.3时, 建议将样本用提取液稀释后测量; ΔA 过小时, 建议增加酶促反应时间(5min或10min)或增加加入的样本体积来测定。
2. 试剂一溶解后易氧化。溶解后尽快用完。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com