

酪氨酸解氨酶（TAL）活性检测试剂盒（紫外分光光度法）

产品货号：BA1867

产品规格：50管/48样

产品简介：

酪氨酸解氨酶（TAL）广泛存在于植物和微生物中，是苯丙氨酸次生代谢途径的关键酶之一。TAL能够跃过肉桂酸-4-羟基化酶（C4H）直接将酪氨酸转化为香豆酸，香豆酸可进一步生成白藜芦醇、柚皮素等具有抗氧化、抗衰老作用的苯丙素类天然产物。

TAL能够分解酪氨酸产生香豆酸，其在310nm下有吸收峰，根据吸光度的变化率可计算出TAL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。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体40mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×2瓶	2-8℃

溶液的配制：

试剂二：临用前取1瓶加入5mL蒸馏水和20 μL浓HCl充分溶解待用。现配现用。2-8℃保存4周。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、细胞超声破碎仪、可调式移液器、1mL石英比色皿、研钵/匀浆器、冰、浓盐酸和蒸馏水。

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10min，取上清，置冰上待测。
2. 细胞或细菌：先收集细胞或细菌到离心管内，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200w，超声3s，间隔10s，重复30次）。12000g，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

二、测定步骤

1. 紫外分光光度计预热30min以上，波长调至310nm，蒸馏水调零。
2. 加样表（在1mL石英比色皿中分别加入）

试剂名称（μL）	测定管
试剂一	700
试剂二	200
样本	100

将上述试剂分别加入比色皿后迅速吹打混匀，记录第10s的吸光值A1，迅速置于37℃（哺乳动物）或25℃（其他物种）水浴或培养箱中3min，拿出迅速擦干测定3min10s时的吸光值A2，计算 $\Delta A=A_2-A_1$ 。



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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

三、TAL 酶活计算

1. 按样本蛋白浓度计算:

单位的定义: 每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟在 310nm 下吸光值变化 0.01 定义为一个酶活性单位。

$$\text{TAL (U/mg prot)} = \Delta A \div 0.01 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 333 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本质量计算:

单位的定义: 每 g 组织在反应体系中每分钟在 310nm 下吸光值变化 0.01 定义为一个酶活性单位。

$$\text{TAL (U/g 质量)} = \Delta A \div 0.01 \times V_{\text{反总}} \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 333 \times \Delta A \div W$$

3. 按细胞或细菌数量计算:

单位的定义: 每 10^4 个细胞或细菌在反应体系中每分钟在 310nm 下吸光度变化 0.01 定义为一个酶活性单位。

$$\text{TAL (U/10}^4\text{cell)} = \Delta A \div 0.01 \times V_{\text{反总}} \div (500 \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.667 \times \Delta A$$

V 反总: 反应总体积, 1mL; 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: 500 万个细胞; T: 反应时间, 3min。

注意事项:

当 ΔA 大于 0.2 或者 A_{11} 大于 1.5 时, 建议将样本用蒸馏水稀释后测量; 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。计算时注意同步修改计算公式。(计算时注意同步修改计算公式)。

实验实例:

- 取 0.1g 稗草叶加入 1mL 提取液进行匀浆研磨, 取上清稀释 3 倍后按照测定步骤操作, 测得计算 $\Delta A = A_2 - A_1 = 0.253 - 0.243 = 0.01$, 按样本质量计算酶活得:

$$\text{TAL (U/g 质量)} = 333 \times \Delta A \div W \times F (\text{稀释倍数}) = 333 \times 0.01 \div 0.1 \times 3 = 99.9 \text{U/g 质量。}$$



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