

酪氨酸解氨酶（TAL）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1866

产品规格：100管/96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100mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体20mL×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2.8mL蒸馏水和11μL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/酶标仪、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、微量石英比色皿/96孔UV板、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/酶标仪预热30min以上，波长调至310nm，紫外分光光度计蒸馏水调零。
2. 加样表（在微量石英比色皿/96孔UV板中分别加入）

试剂名称（μL）	测定管
试剂一	140
试剂二	40
样本	20

将上述试剂分别加入微量石英比色皿/96孔UV板后迅速吹打混匀，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ΔA=A2-A1。



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

A、按微量石英比色皿计算：

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。

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

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，0.2mL；V 样：加入的样本体积，0.02mL；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。

B、按 96 孔 UV 板计算：

1. 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分钟在 310nm 下吸光值变化 0.005 定义为一个酶活性单位。

$$\text{TAL (U/mg prot)} = \Delta A \div 0.005 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 667 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

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 0.005 定义为一个酶活性单位。

$$\text{TAL (U/g 质量)} = \Delta A \div 0.005 \times V_{\text{反总}} \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 667 \times \Delta A \div W$$

3. 按细胞或细菌个数计算：

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 0.005 定义为一个酶活性单位。

$$\text{TAL (U/10}^4\text{cell)} = \Delta A \div 0.005 \times V_{\text{反总}} \div (500 \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 1.334 \times \Delta A$$

V 反总：反应总体积，0.2mL；V 样：加入的样本体积，0.02mL；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：

1. 取 0.1g 木槿叶加入 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，使用微量石英比色皿测得计算 $\Delta A = A_2 - A_1 = 0.4813 - 0.4689 = 0.0124$ ，按样本质量计算酶活得：

$$\text{TAL (U/g 质量)} = 333 \times \Delta A \div W \times F (\text{稀释倍数}) = 333 \times 0.0124 \div 0.1 \times 3 = 123.876 \text{U/g 质量。}$$



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

QQ: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com