



## 酪氨酸解氨酶活性检测试剂盒

### TAL Assay Kit

微量法

**产品编号:** AK368M

**产品规格:** 100T/48S

**产品组成及保存条件:**

编号	规格	储存条件
ES368	60mL×1 瓶	4℃保存；
AK368-A	40mL×1 瓶	4℃保存；
AK368-B	粉剂×2 瓶	4℃保存；
AK368-C	2mL×1 瓶	4℃保存；

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

**简介:**

**意义:** TAL 广泛存在于植物和微生物中，是苯丙氨酸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。

**原理:** TAL 能够分解酪氨酸产生香豆酸，使反应溶液 333nm 下的吸光度随反应时间而上升，根据吸光度的变化率可计算出 TAL 活性。

**自备用品:**

分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板 (UV 板)、研钵、冰和蒸馏水。

**酶液提取:**

- 组织：按照组织质量 (g) : ES368 体积(mL)为 1: 5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL ES368），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 细菌、细胞或组织样品的制备：细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量 ( $10^4$  个) : ES368 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL ES368），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20% 或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 血清（浆）果汁等液体样品：直接检测。

**测定步骤:**

- 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 333nm，蒸馏水调零。
- AK368-B 的配置：临用前在 AK368-B 瓶中加入 10mL AK368-A 充分溶解待用（用不完的试剂 4℃保存一周，注意现配现用），在 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）水浴 10min 以上。
- 在 EP 管中依次加入如下试剂

试剂名称	测定管 (μL)	对照管 (μL)
样本上清	40	40
AK368-A		360
AK368-B	360	
充分混匀，40℃保温 60min		
AK368-C	20	20

混匀，10000g 4℃离心 5min，取 200μL 上清至微量比色皿/96 孔 UV 板，333nm 下测定吸光值 A 测定与

A 对照, 计算  $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$

## TAL 活性计算:

### a. 使用微量比色皿测定:

#### 1. 血清 (浆) 或果汁 TAL 活性

酶活单位定义:

每分钟每 mL 血清 (浆) 或果汁在每 mL 反应体系中使 333nm 处吸光值变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$TAL(\text{U/mL}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T = 17.5 \times \Delta A$$

#### 2. 组织、细菌或细胞 TAL 活性

##### (1) 按样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每分钟每 mg 组织蛋白在每 mL 反应体系中使 333nm 处吸光值变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$TAL(\text{U/mg prot}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div 0.01 \div T = 17.5 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

此法需要自行测定样本蛋白质浓度。推荐使用 BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))。

##### (2) 按样本鲜重计算:

单位定义: 每分钟每 g 组织在每 mL 反应体系中使 333nm 处吸光值变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$TAL(\text{U/g 鲜重}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T = 17.5 \times \Delta A \div W$$

#### 3. 按细菌或细胞密度计算:

单位定义: 每分钟每 1 万个细菌或细胞在每 mL 反应体系中使 333nm 处吸光值变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$TAL(\text{U}/10^4 \text{ cell}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T = 0.035 \times \Delta A$$

注:  $V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积, 0.42mL;  $V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.04mL;  $V_{\text{样总}}$ : 加入 ES368 体积, 1 mL;  $T$ :

反应时间, 60 min;  $C_{\text{pr}}$ : 样本蛋白质浓度, mg/mL;  $W$ : 样本质量, g; 500: 细胞或细菌总数, 500 万。

### b. 使用 96 孔板测定:

#### 1. 血清 (浆) 或果汁 TAL 活性

酶活单位定义:

每分钟每 mL 血清 (浆) 或果汁在每 mL 反应体系中使 333nm 处吸光值变化 0.005 为一个酶活力单位。

$$TAL(\text{U/mL}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.005 \div T = 35 \times \Delta A$$

#### 2. 组织、细菌或细胞 TAL 活性

##### (1) 按样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每分钟每 mg 组织蛋白在每 mL 反应体系中使 333nm 处吸光值变化 0.005 为一个酶活力单位。

$$TAL(\text{U/mg prot}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div 0.005 \div T = 35 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

此法需要自行测定样本蛋白质浓度。推荐使用 BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))。

##### (2) 按样本鲜重计算:

单位定义: 每分钟每 g 组织在每 mL 反应体系中使 333nm 处吸光值变化 0.005 为一个酶活力单位。

$$TAL(\text{U/g 鲜重}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.005 \div T = 35 \times \Delta A \div W$$

##### (3) 按细菌或细胞密度计算:

单位定义: 每分钟每 1 万个细菌或细胞在每 mL 反应体系中使 333nm 处吸光值变化 0.005 为一个酶活力单位。

$$TAL(\text{U}/10^4 \text{ cell}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.005 \div T = 0.07 \times \Delta A$$

注:  $V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积, 0.42mL;  $V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.04mL;  $V_{\text{样总}}$ : 加入 ES368 体积, 1 mL;  $T$ :

反应时间, 60 min;  $C_{\text{pr}}$ : 样本蛋白质浓度, mg/mL;  $W$ : 样本质量, g; 500: 细胞或细菌总数, 500 万。