



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:

1. 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。
2. 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。
3. 血清 (浆) 果汁等液体样品: 直接检测。

测定步骤:

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 333nm, 蒸馏水调零。
2. 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。
3. 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。

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

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。

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

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。

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

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。

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

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; Cpr : 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。

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

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。

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

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。

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

(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。

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

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; Cpr : 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。