



酪氨酸解氨酶活性检测试剂盒

TAL Assay Kit

紫外分光光度法

产品编号: AK368U

产品规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES368	30mL×1 瓶	4℃保存；
AK368-A	100mL×1 瓶	4℃保存；
AK368-B	粉剂×3 瓶	4℃保存；
AK368-C	5mL×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:

紫外分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL 石英比色皿、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 中加入 15mL 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	100	100
AK368-A		900
AK368-B	900	
充分混匀，40℃保温 60min		
AK368-C	50	50

混匀，10000g 4℃离心 5min，取 1mL 上清至 1mL 石英比色皿，333nm 下测定吸光值 A 测定与 A 对照，

计算 $\Delta A = A_{测定} - A_{对照}$

TAL 活性计算：

- 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。

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

- 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。

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

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。

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

- 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。

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

注：V 反总：反应体系总体积，1.05mL；V 样：加入样本体积，0.1mL；V 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。