

## 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11 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/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



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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 $\Delta A=A2-A1$ 。

### 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 $\Delta A$ 大于0.2或者A1大于1.5时，建议将样本用蒸馏水稀释后测量； $\Delta A$ 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 $\Delta A=A2-A1=0.4813-0.4689=0.0124$ ，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

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

QQ：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com