

酪氨酸解氨酶（TAL）活性检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

货号：AC10629

规格：50T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存
试剂一	液体 40 mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	粉剂×2 瓶	4°C保存

溶液的配制：

试剂二：临用前每瓶加入 5 mL 双蒸水和 20 μ L 浓 HCl 充分溶解待用。现配现用。

产品说明：

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。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL石英比色皿、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，具体比例可以参考文献）

1、组织 称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆。12000g，4°C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 20%，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）。12000g，4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

二、测定步骤

1、紫外分光光度计预热30min，波长调至310nm，蒸馏水调零。

2、加样表（在1mL石英比色皿中分别加入）

试剂名称（ μ L）	测定管
试剂一	700
试剂二	200
样本	100

充分混匀后立即测定 10s 时在 310nm 下的吸光度，记为 A1，之后迅速将其放入 37°C 水浴或 37°C 培养箱中 3min。然后迅速拿出擦净后测定 190s 时的吸光度，记为 A2。计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

三、TAL 酶活计算

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，1mL；V样：加入的样本体积，0.1mL；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A1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。

实验实例：

1. 取0.1g稗草叶加入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，测得计算 $\Delta A = A_2 - A_1 = 0.253 - 0.243 = 0.01$ ，按样本质量计算酶活得：

$$\text{TAL (U/g 质量)} = 333 \times \Delta A \div W \times F (\text{稀释倍数}) = 333 \times 0.01 \div 0.1 \times 3 = 99.9 \text{ U/g 质量。}$$