

## 酪氨酸解氨酶 (Tyrosine ammonilyase, TAL) 试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

### 测定意义:

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。

### 测定原理:

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。

### 组成:

产品名称	AO024-50T/24S	Storage
提取液: 液体	60ml	4°C
试剂一: 液体	60ml	4°C
试剂二: 粉剂	2 瓶	4°C
试剂三: 液体	5ml	4°C
说明书	一份	

试剂三: 粉剂×1 瓶, 4°C 保存。临用前加 5ml 蒸馏水溶解; 用不完的试剂分装后-20°C 保存, 禁止反复冻融。

### 自备仪器和用品:

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

### 粗酶液提取:

#### 1、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): 提取液体积 (ml) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1ml 提取液), 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°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积(ml)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1ml 提取液), 进行冰浴匀浆。8000g 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

2、血清 (浆) 果汁等液体样品: 直接检测。

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线: 0518-81263339

官网:<http://www.bio149.com>

**测定操作表：**

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 333nm，蒸馏水调零。
- 2、试剂二的配置：临用前在试剂二瓶中加入 15ml 试剂一充分溶解待用（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 (μl)	测定管	对照管
样本上清	100	100
试剂一		900
试剂二	900	
充分混匀，40℃保温 60min		
试剂三	50	50

混匀，10000g4℃离心 5min，取 0.8~1ml 上清至 1ml 石英比色皿，333nm 下测定吸光值 A 测定与 A 对照， $\Delta A = A_{测定} - A_{对照}$

**TAL 活性计算：**

1、血清（浆）或果汁 TAL 活性

单位的定义：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。

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

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。

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

此法需要自行测定样本蛋白质浓度。

(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。

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

(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。

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

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：加入提取液体积，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。

