

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

微量法 100T/48S

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	AO025-100T/48S	Storage
提取液：液体	100ml	4°C
试剂一：液体	50ml	4°C
试剂二：粉剂	2 瓶	4°C
试剂三：液体	5ml	4°C
说明书	一份	

自备仪器和用品：

酶标仪、台式离心机、可调式移液器、96 孔板 (UV 板)、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。

测定操作表：

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



- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 333nm。
- 2、准备 96 孔 UV 板一块（非普通酶标板，普通酶标板只能透过可见光，不能透过紫外光，检测波长小于 340nm 务必使用 UV 板）。
- 3、试剂二的配置：临用前在试剂二瓶中加入 10ml 试剂一充分溶解待用（用不完的试剂 4°C 保存一周，注意现配现用），在 37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）水浴 10min 以上。
- 4、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	40	40
试剂一		360
试剂二	360	
充分混匀，40°C 保温 60min		
试剂三	20	20

混匀，10000g 4°C 离心 5min，取 200μl 上清至 96 孔 UV 板，333nm 下测定吸光值 A 测定与 A 对照， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$

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 0.005 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。

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

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 0.005 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。

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

V 反总：反应体系总体积，0.42ml；V 样：加入样本体积，0.04ml；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。

