



## 酪氨酸解氨酶活性检测试剂盒 TAL Assay Kit

微量法

产品编号：AK368M

产品规格：100T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
ES368	100mL×1 瓶	4℃保存；
AK368-A	50mL×1 瓶	4℃保存；
AK368-B	粉剂×2 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：**

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。

**酶液提取：**

1. 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 1mLES368），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
2. 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。
3. 血清（浆）果汁等液体样品：直接检测。

**测定步骤：**

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. AK368-B 的配置：临用前在 AK368-B 瓶中加入 10mL 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。
4. 在 EP 管中依次加入如下试剂

试剂名称	测定管（ $\mu$ L）	对照管（ $\mu$ L）
样本上清	40	40
AK368-A		360
AK368-B	360	

充分混匀, 40℃保温 60min		
AK368-C	20	20
混匀, 10000g 4℃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, ΔA=A 测定-A 对照		

### TAL 活性计算:

#### 1. 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 0.005 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。

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

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 0.005 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。

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

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。

注: 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(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。