上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co.， Ltd
电话：400-666-5481　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：3008007435@qq.com

酪氨酸解氨酶(TAL)试剂盒

紫外分光光度法

货号：R43834-48S

产品简介：

酪氨酸解氨酶(TAL,EC 4.3.1.23) 是对香豆酸合成的另一种途径中的关键酶。在生 物体内，对香豆酸的合成有两条途径。一是以苯丙氨酸为底物，经苯丙氨酸解氨酶催化生成肉桂酸，再经细胞色素P450 酶系催化生成对香豆酸。而部分苯丙氨酸解氨酶被发现 可以直接催化酪氨酸，生成对香豆酸，成为对香豆酸合成的另一途经，

本试剂盒根据酪氨酸解氨酶 (TAL)催化L-酪氨酸生成对香豆酸，该物质在310nm 处有最大吸收值，通过测定吸光值升高速率计算TAL 活性。

试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求
提取液	液体60mL×1瓶	4℃保存
试剂一	液体80mL×1瓶	4℃保存
试剂二	液体13mL×1瓶	4℃保存

所需的仪器和用品：

紫外分光光度计、1ml 石英比色皿(光径1cm) 、水浴锅、离心机、可调式移液器、研钵、 冰和蒸馏水。

酪氨酸解氨酶 (TAL) 的测定 ：

建议正式实验前选取2个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费!

1、 样本制备

①组织样本：

取约0.1g 组织，加入1mL 提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm,4℃ 离心10min, 取上清，

置冰上待测。

【注】:若增加样本量，可按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取 ②细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约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200W, 超声3s, 间隔10s, 重复30次); 12000rpm4℃离心10min, 取上清，置冰上待测。

【注】:若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液 (mL) 为500~1000:1的比例进行提取。

2、 上机检测

紫外分光光度计预热30min 以上，调节波长至310nm, 蒸馏水调零。

②在EP管中或1mL石英比色皿中按顺序加入下列试剂：

试剂名称(μL)	测定管	对照管
样本	100	100
试剂一	650	900
试剂二	250	
混匀，37℃反应60 min,立即于310nm处读取吸光值A,△A=A测定-A对照(每个样本需做一个对照管)。		

【注】若△A 在零附近徘徊，可增加样本加样量V1(如增至150μL, 则试剂一相应减少)或延长反应时间T (如增至90min), 则改变后的加样量V1 或反应时间T 需代入计算公式重新计算。

结果计算：

1、按样本鲜重计算

酶活定义：在37℃下，每克组织在反应体系中每小时使A310 吸光值变化0.01为一个酶活单位(U)。

TAL(△OD_{310}/h/g 鲜重)=ΔA÷(W×Vl÷V)÷0.01÷T=1000×ΔA÷W

2、按蛋白浓度计算

酶活定义：在37℃下，每毫克组织蛋白在反应体系中每小时使A310 吸光值变化0.01为一个酶活单位(U)。

TAL(△OD_{310}/h/mg prot)=ΔA÷(V1×Cpr)÷0.01÷T=1000×ΔA÷Cpr

3、按细胞/细菌数量计算：

酶活定义：在37℃下，每10^4个细胞/细菌在反应体系中每小时使 A310 吸光值变化0.01 为一个酶活单位 (U)。

TAL(△OD_{310}/h/10^4cell)=ΔA÷(500×V1÷V)÷0.01÷T=2×ΔA

V---加入提取液体积，1mL;

V1--- 加入样本体积，0.1mL;

T---反应时间，60 min=1h;

W---样本质量， g;

Cpr--- 样本蛋白质浓度，mg/mL; 建议使用本公司的BCA 蛋白含量检测试剂盒。