

CheKine™ 酪氨酸解氨酶（TAL）活性检测试剂盒（微量法）

Cat #: KTB1161

Size: 48 T/24 S 96 T/48 S

	酪氨酸解氨酶（TAL）活性检测试剂盒（微量法）		
REF	货号: KTB1161	LOT	批号: 见产品标签
	适用样本: 动植物组织、细胞或细菌、血清（浆）或其他液体		
	保质期: 4℃避光保存 6 个月		

原理

酪氨酸解氨酶（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，能跃过肉桂酸-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 分解酪氨酸产生香豆酸，使反应溶液在 333 nm 处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。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	120 mL	4℃
Reagent I	30 mL	60 mL	4℃
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×2 vials	4℃，避光保存
Reagent III	1.5 mL	3 mL	4℃

注意：正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或紫外分光光度计（能测 333 nm 处的吸光度）
- 96 孔 UV 板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头
- 恒温水浴锅、制冰机、离心机、恒温箱
- 去离子水
- 研钵或匀浆器

试剂准备

Extraction Buffer: 即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

注意：**Extraction Buffer** 有毒且有刺激性气味，建议在通风橱进行实验。

Reagent I: 即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

Reagent II: 临用前配制；取一瓶 Reagent II 向其中加入 14 mL Reagent I，充分溶解，在 37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）水浴 10 min 以上；用不完的试剂 4°C 避光可保存一周。

Reagent III: 即用型；使用前，平衡到室温；4°C 保存。

样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在 -80°C 保存 1 个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

1. 组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，8,000 g，4°C 离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
2. 细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5 min（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），然后 8,000 g，4°C 离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
3. 血清（浆）等液体样本：直接检测。

注意：如需测定蛋白浓度，推荐使用 Abbkine 货号：KTD3002 的蛋白质定量试剂盒（Bradford 法）进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30 min，调节波长到 333 nm。紫外分光光度计用去离子水调零。
2. 酶促反应（下述操作在 1.5 mL EP 管中进行）：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)
样本上清	40	40
Reagent I	0	360
Reagent II	360	0
充分混匀，40°C 孵育 60 min		
Reagent III	20	20

混匀，10,000 g，4°C 离心 5 min，取 200 μL 上清液至微量石英比色皿或 96 孔 UV 板中，于 333 nm 处测定吸光值，分别记为 A_{测定}、A_{对照}，计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

注意：每个测定管需设一个对照管，实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本的 ΔA 小于 0.4，可适当增大样本量，如果样本的 ΔA 大于 2.0，样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释，再进行实验，乘以最终的稀释倍数。

结果计算

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

1. 按蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每 min 使 333 nm 处吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

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

2. 按样本鲜重计算：

定义：每 g 组织在反应体系中每 min 使 333 nm 处吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{TAL (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.005 \div T = \mathbf{35 \times \Delta A \div W}$$

3. 按细胞或细菌数量计算

定义：每 10⁴ 个细菌或细胞在反应体系中每 min 使 333 nm 处吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

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

4. 按样本体积计算

定义：每 mL 血清（浆）在反应体系中每 min 使 333 nm 处吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

TAL (U/mL)=ΔA×V_{反总}÷V_样÷0.005÷T=35×ΔA

V_{反总}：反应体系总体积，0.42 mL；V_样：加入反应体系中样本体积，0.04 mL；V_{样总}：加入 Extraction Buffer 体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间，60 min；W：样本鲜重，g；500：细菌或细胞总数，500 万。

结果展示

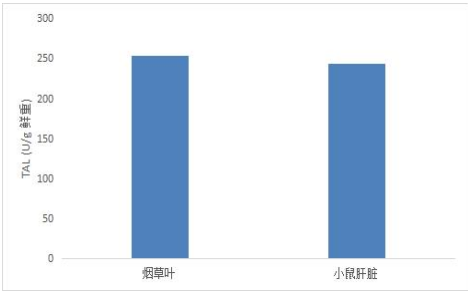


Figure 1. 本试剂盒测定烟草叶和小鼠肝脏中 TAL 的活性

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1015	CheKine™ α-葡萄糖苷酶活性检测试剂盒（微量法）
KTB1121	CheKine™ 丙酮酸（PA）含量检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

