



酪氨酸酶活性检测试剂盒
Tyrosinase Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



酪氨酸酶活性检测试剂盒

Tyrosinase Activity Assay Kit

一、产品描述

酪氨酸酶 (Tyrosinase) 是一种含多亚基的含铜氧化还原酶, 广泛存在于微生物、动植物及人体中, 具有多种特征催化活性和生理功能, 可作为生物体合成黑色素的关键酶, 也是引起果蔬酶促褐变的主要因素, 同时也对昆虫的免疫及生长有重要影响, 在抗氧化、生物检测、环境保护等方面具有广泛应用。

酪氨酸酶能够催化 L-多巴生成多巴色素, 产物在 475 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征酪氨酸酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 130 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	粉剂×3 瓶	4°C 避光保存	使用前每瓶加入 7.5 mL 提取液充分混匀 (现用现配, 配制后 4°C 可保存 24 h)

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿 (光径 10 mm) /96 孔板、可调式移液器/多道移液器、恒温水浴/培养箱、台式离心机、研钵/匀浆器和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①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 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 12000 g 离心 20 min, 取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 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 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 20% 或 200 W, 超声 3 s, 间隔 10 s, 重复 30 次), 4°C 12000 g 离心 20 min, 取上清置于冰上待测。

③血清 (浆)、培养液等液体样本: 直接检测或使用提取液适当稀释后进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 475 nm，蒸馏水调零。

②在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
粗酶液	20
试剂一	180

吸光值测定：①立即充分混匀并开始计时，测定 10 s（总时间）时 475 nm 处吸光值，记为 A1；

②37°C（哺乳动物）或 25°C（其他物种）准确反应 180 s，测定 190 s（总时间）时 475 nm 处吸光值，记为 A2；③计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

3.酪氨酸酶（Tyrosinase）活性计算

3.1 使用 96 孔板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化生成 1 nmol 多巴色素定义为一个酶活性单位。

$$\text{Tyrosinase (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{180.18 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化生成 1 nmol 多巴色素定义为一个酶活性单位。

$$\text{Tyrosinase (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{180.18 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟催化生成 1 nmol 多巴色素定义为一个酶活性单位。

$$\text{Tyrosinase (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{180.18 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样品体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟催化生成 1 nmol 多巴色素定义为一个酶活性单位。

$$\text{Tyrosinase (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 180.18 \times \Delta A$$

3.2 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化生成 1 nmol 多巴色素定义为一个酶活性单位。

$$\text{Tyrosinase (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{90.09 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化生成 1 nmol 多巴色素定义为一个酶活性单位。

$$\text{Tyrosinase (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{90.09 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟催化生成 1 nmol 多巴色素定义为一个酶活性单位。

$$\text{Tyrosinase (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{90.09 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样品体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟催化生成 1 nmol 多巴色素定义为一个酶活性单位。

$$\text{Tyrosinase (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times T} = 90.09 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ε ：多巴色素摩尔消光系数： 3.7×10^4 L/mol/cm； d_1 ：96 孔板光径，0.5 cm； d_2 ：微量玻璃比色皿光径，1 cm；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样品质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间，3 min； 10^9 ：1 mol = 10^9 nmol。

四、注意事项

①若 ΔA 大于 0.3，建议将粗酶液使用**提取液**适当稀释后再进行测定；若 ΔA 小于 0.05，建议适当增加酶促反应时间或增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

②试剂一配制后易氧化，应现用现配，配制后尽快用完；

③准确在 10 s 和 190 s 时完成吸光值测定，以确保实验结果的准确性和重复性；若使用 96 孔板进行测定，应使用多道移液器且分批进行测定，以确保各组间反应时间的一致；

④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

