

酪氨酸酶活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYHC9-M48	酪氨酸酶活性检测试剂盒	48T	微量法
AYHC9-M96		96T	

一、测定意义：

酪氨酸酶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。

二、测定原理：

酪氨酸酶能够催化 L-多巴生成多巴醌，其与 MBTH 生成紫红色物质，在 505 nm 处具有特征吸收峰，通过测定其吸光值即可间接表征酪氨酸酶的活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 80mL×1 瓶	液体 80mL×2 瓶	2-8℃保存
试剂一	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂一的配制： 使用前每瓶加入 20 mL 提取液充分混匀溶解。			
试剂二	液体 4mL×1 瓶	液体 8 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 2mL×1 瓶	液体 4 mL×1 瓶	2-8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量 (g) : 提取液(mL)为 1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm, 4℃离心 10 min, 取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞：按照细胞数量 10^4 个 : 提取液体积 (mL) 500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎

细胞（功率 300w, 超声 3s, 间隔 7s, 总时间 3 min），5000 rpm, 4℃离心 10min, 取上清置冰上待测。

3、血清（浆）等液体样本：直接检测或适当稀释后进行检测。

测定步骤

1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 505nm，蒸馏水调零；

2、操作表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	对照管
上清液 (μL)	20	-
蒸馏水 (μL)	-	20
试剂一 (μL)	300	300
试剂二 (μL)	60	60
混匀，37℃反应 20min		
试剂三 (μL)	20	20
充分混匀，8000g 离心 10min, 取上清 200μL 于 96 孔板中 测定 505 nm 处吸光值，记为 $A_{\text{测定}}$ 和 $A_{\text{空白}}$ ，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白管只需测定 1-2 次。		

五、酪氨酸酶活性计算：

1、按样本鲜重计算：

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

计算公式： 酪氨酸酶 (nmol/min/g) = $\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9 \div (\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T)$ = $90.09 \times \Delta A \div W$

2、按样本蛋白浓度计算：

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

计算公式： 酪氨酸酶 (nmol/min/mg prot) = $\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}} \times T)$ = $90.09 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

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 多巴醌定义为一个酶活性单位。

计算公式：酪氨酸酶 (nmol/ 10^4 cell) = $\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9 \div (\varepsilon \times d \times N)$

$$V_{\text{样}} \times N \times T = 90.09 \times \Delta A \div N$$

4、按血清（浆）体积计算：

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

计算公式：酪氨酸酶 (nmol/mL) = $\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (\varepsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T)$

$$= 90.09 \times \Delta A$$

$V_{\text{样}}$: 反应体系中加入上清液的体积, 0.02mL; $V_{\text{提}}$: 上清液总体积,

1 mL; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 4×10^{-4} L; ε : 多巴醌摩尔消光系数:

3.7×10^4 L/mol/cm; d : 96 孔板光径, 0.6mL; Cpr: 样本蛋白浓度,

mg/mL; W: 样本质量, g; 细菌或细胞数量: 以万计; T: 反应时

间, 10 min; 10^9 : 单位换算系数, 1 mol= 10^9 nmol。

六、注意事项：

1、若 ΔA 大于 0.5, 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、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。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日