

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：GBQ252

产品规格：48T(24 samples)/96T(48 samples)

检测仪器：酶标仪(323-343 nm)

Elabscience®酪氨酸解氨酶(TAL)比色法测试盒

Tyrosine Ammonia-lyase (TAL) Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测果汁、植物和动物组织样本中的酪氨酸解氨酶活力。

检测原理

TAL 能够分解酪氨酸产生 4-香豆酸,4-香豆酸浓度上升使反应溶液在 333 nm 下的吸光度上升，根据吸光度的变化率可计算出 TAL 活力。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 (Extracting Solution)	25 mL×1 瓶	50 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 12 个月
试剂二 (Reagent 2)	缓冲液 (Buffer Solution)	35 mL×1 瓶	35 mL×2 瓶	2-8℃ 保存 12 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 (Substrate)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃ 保存 12 个月
试剂四 (Reagent 4)	终止液 (Stop Solution)	1.5 mL×1 支	1.5 mL×2 支	2-8℃ 保存 12 个月
	96 孔紫外酶标板	96 孔×1 块		无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。
对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(323-343 nm，最佳检测波长 333 nm)，37°C 恒温箱

试剂准备

① 检测前，试剂平衡至室温检测前，试剂一需在2-8°C下预冷，其他试剂平衡至室温。

② 试剂三工作液的配制：

取一瓶试剂三用 30 mL 试剂二溶解，45°C 水浴 20 min 以上，充分混匀后使用，若有固体析出，可 45°C 水浴溶解后再使用，2-8°C 可保存 1 周。

样本准备

① 样本处理

A 粗酶液(用于测定管)

液体样本：直接测定

组织样本：取 0.05-0.1 g 新鲜组织块，按照重量(g)：体积(mL)=1：4 的比例加入试剂一，匀浆后，2-8℃，10000 × g 离心 25 min(样本上清若浑浊可多次离心)，取上清液置于冰上在半天之内待测。

B 粗酶液(用于对照管)

取液体样本或粗酶提取液上清的 50%到 1.5 mL EP 管, 100℃ 水浴 5 min, 冰水冷却，10000 × g 离心 10 min，作为对照管煮沸的上清用。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒最低检测限为0.12 U/mL，可参考下表进行稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
20%绿萝组织	不稀释	20%大鼠肝脏组织	不稀释
20%芹菜组织	不稀释	20%大鼠肾组织	不稀释
20%香菜组织	不稀释	20%玉米组织	不稀释

注：稀释液为试剂一。

实验关键点

① 样本上清提取过程，匀浆和离心在 2-8℃ 条件下操作，待测上清置于冰上并在半天之内检测。

② 样本上清若浑浊可多次离心。

操作步骤

- ① 测定管：取 40 μL A 粗酶液，加入相应的 1.5 mL EP 管中。
对照管：取 40 μL 处理后的 B 粗酶液，加入相应的 1.5 mL EP 管中。
- ② 向步骤①中各对照管和测定管加入 360 μL 试剂三工作液。
- ③ 充分混匀，37°C 孵育 45 min。
- ④ 向步骤③中各管加入 20 μL 试剂四。
- ⑤ 充分混匀，4°C，10000 × g 离心 5 min，取 200 μL 上清加入紫外酶标板对应孔中，酶标仪波长 333 nm 下测定各孔吸光度。

操作表

	对照管	测定管
A 粗酶液(μL)	--	40
B 粗酶液(μL)	40	
试剂三工作液(μL)	360	360
充分混匀，37°C 孵育 45 min		
试剂四(μL)	20	20
充分混匀，4°C，10000 × g 离心 5 min，取 200 μL 上清加入紫外酶标板对应孔中，酶标仪波长 333 nm 下测定各孔吸光度		

结果计算

果汁中 TAL 活性:

酶活定义: 37°C 条件下, 每分钟每毫升果汁在每毫升反应体系中使波长 333 nm 处吸光度变化 0.005 的酶量为一个活力单位。

$$\text{TAL 酶活 (U/mL)} = \Delta A \times V_1 \div V_2 \div 0.005 \div t$$

组织中 TAL 活性:

酶活定义: 37°C 条件下, 每分钟每克组织湿重在每毫升反应体系中使波长 333 nm 处吸光度变化 0.005 的酶量为一个活力单位。

$$\text{TAL 活力 (U/g 组织湿重)} = \Delta A \times V_1 \div (m \times V_2 \div V_3) \div 0.005 \div t$$

注解:

ΔA : 333 nm 处, 样本测定孔 OD 值-对照孔 OD 值

V_1 : 反应体积, 0.42 mL

V_2 : 加入体系果汁体积及样本上清液体积, 0.04 mL

V_3 : 加入匀浆液体积, mL

m : 组织湿重质量, g

t : 孵育时间, 45 min

附录1 关键数据

1. 技术参数

灵敏度	0.12 U/mL		
-----	-----------	--	--

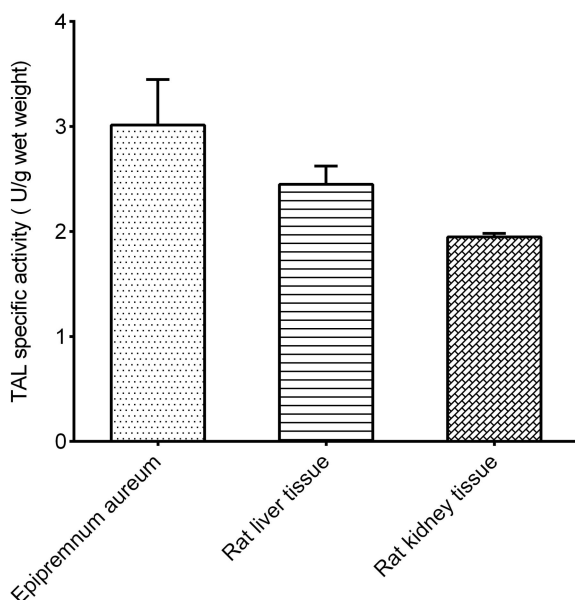
附录2 实例分析

例如检测绿萝组织(数据仅供参考):

取制备的20%绿萝组织上清液, 按操作表操作, 结果如下: 对照孔平均OD值为0.278, 样本测定孔平均OD值为0.290, 计算结果为:

$$\begin{aligned}\text{TAL 活力 (U/g 组织湿重)} &= (0.290 - 0.278) \times 0.42 \div (0.1 \times 0.04 \div 0.4) \div 0.005 \div 45 \\ &= 2.24 \text{ U/g 组织湿重}\end{aligned}$$

按说明书操作, 测定20%绿萝组织上清液(测定孔加样量40 μL)、20%大鼠肝脏组织上清液(测定孔加样量40 μL)和20%大鼠肾脏组织上清液(测定孔加样量为40 μL)中的TAL活力(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	加样量差异较大	保证每管加样量一致
样本测量 OD 值很低	样本浓度较低	减少匀浆介质，重新提取，增加样本浓度
	样本不新鲜	取新鲜样本，重新检测
	样本上清液保存时间过长或者失活	取新鲜样本，重新检测

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。