

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K851-M

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°C 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°C 保存 12 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 (Substrate)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8°C 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°C 保存 12 个月
	96 孔紫外酶标板	1 板		
	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 ℃ 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 ℃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 ℃ 水浴 20 min 以上，充分混匀后使用，若有固体析出，可 45 ℃ 水浴溶解后再使用，2-8 ℃ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ ，10000 $\times g$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 45 min		
试剂四(μL)	20	20
充分混匀，4 $^{\circ}\text{C}$ ，10000 $\times g$ 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℃ 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℃ 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		
-----	-----------	--	--

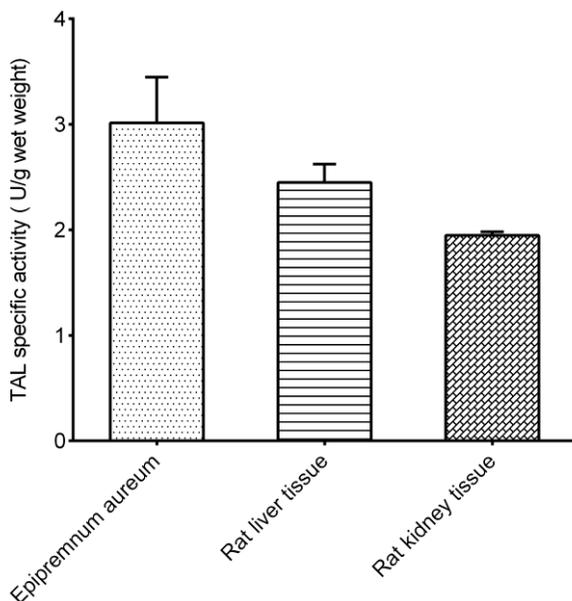
附录2 实例分析

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。