

## 酪氨酸酶抑制剂活性检测试剂盒（微量法）

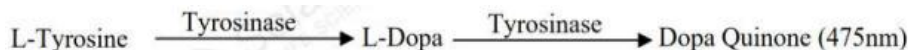
产品货号：BA3474

产品规格：100T/96S

### 产品说明：

酪氨酸酶(Tyrosinase; EC1.14.18.1)是黑色素合成过程中的关键限速酶，其抑制剂在化妆品美白、果蔬抗褐变及某些疾病治疗方面具有重要研究价值。本试剂盒基于酶反应动力学原理，通过检测产物在特定波长下的吸光度变化，计算得出抑制率，适用于筛选和评估酪氨酸酶抑制剂的抑制率大小。

L-酪氨酸在酪氨酸酶的作用下生成多巴，多巴经酪氨酸酶催化生成多巴醌，多巴醌在在475nm处有吸收峰，加入酪氨酸酶抑制剂后可以抑制多巴醌的生成，据此可以计算出酪氨酸酶抑制率。



### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体25mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	-20℃
试剂三	粉剂×1瓶	2-8℃
阳性对照管	粉剂×1瓶	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 试剂二：临用前每瓶加入 15mL 试剂一充分溶解，用不完的试剂可分装-20℃ 保存保存 8 周。
2. 试剂三：临用前加入 8.3mL 试剂一充分溶解待用，可 40℃ 助溶或超声助溶，确保溶解完全；用不完的试剂 2-8℃ 保存 8 周。
3. 阳性对照管(选做)：临用前加入 1mL 试剂一充分溶解为 10mg/mL 的曲酸溶液；用试剂一稀释到相应浓度或浓度梯度，计算曲酸的 IC50；用不完的试剂 2-8℃ 保存 4 周。

### 自备仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、封板膜、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰、蒸馏水、自备样本溶剂。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理(可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献)。

1. 用合适的方法提取需要检测样本中的酪氨酸酶抑制剂或者用合适的溶剂溶解并调节到恰当的浓度，冰上保存待测(建议配制高浓度母液，再进行稀释，减少溶剂对结果的影响)。
2. 推荐样本溶剂：蒸馏水、甲醇、乙醇、DMSO(可参考文献或者进行预实验来进行浓度设置，溶剂均需自备)。

#### 二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热 30min，波长调至 475nm。蒸馏水调零。
2. 如果选做阳性对照或抑制剂曲线，可将曲酸溶液用试剂一稀释至所需浓度或浓度梯度(推荐浓度:5-100μg/mL)，现用现配。
3. 根据样本数量取部分试剂二平衡至常温(该试剂为酶试剂，切勿全部放于常温)。
4. 加样表(在 96 孔板或 1.5mL EP 管中依次加入下列试剂)：



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂试剂 (μL)	测定管	空白测定管	空白对照管
试剂一	-	-	130
试剂二	130	130	-
样本/曲酸溶液	20	-	-
样本溶剂	-	20	20
充分混匀, 37°C 孵育 10min。			
试剂三	50	50	50
充分混匀, 37°C 准确反应 10min, 于 475nm 处测定吸光值, 分别记为 A 测定、A 空白测定、A 空白对照。空白管和空白对照管只需测 1-2 次。			

### 三、酪氨酸酶抑制率计算

#### 1. 抑制率计算:

抑制率(%)=(A空白测定-A测定)÷(A空白测定-A空白对照)×100%

#### 2. IC50 的计算:

对于检测发现有抑制效果的样本, 通过检测该抑制剂的剂量效应即可测定该抑制剂的 IC50。

### 注意事项:

1. 样本中若有干扰测定的因素(如:杂质、色素等), 需添加对照管(此时, 本试剂盒规格为 100T/48S), 操作表如下:

试剂试剂 (μL)	测定管	对照管	空白测定管	空白对照管
试剂一	-	130	-	130
试剂二	130	-	130	-
样本/曲酸溶液	20	20	-	-
样本溶剂	-	-	20	20
充分混匀, 37°C 孵育 10min。				
试剂三	50	50	50	50
充分混匀, 37°C 准确反应 10min 于 475nm 处测定吸光值, 分别记为 A 测定、A 对照、A 空白测定、A 空白对照。空白管和空白对照管只需测 1-2 次。				

此时抑制率按照以下公式计算:

抑制率=[(A空白测定-A空白对照)-(A测定-A对照)]÷(A空白测定-A空白对照)×100%

### 实验案例:

样本	浓度	A 测定	A 对照	A 空白	A 空白对照	抑制率 (%)
曲酸	25μg/ml	0.268	0.044	0.491	0.042	50.1%
熊果苷	5mg/ml	0.258	0.042	0.491	0.042	51.9%
茶多酚	1mg/ml	0.257	0.051	0.481	0.043	53.0%
壬二酸	3mg/ml	0.214	0.042	0.475	0.042	60.3%



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com