天净沙系列

CAT#:EC1.13.12.3

低温运输和保存

天净沙

色氨酸 2-单加氧酶活性测定试剂盒（比色法）

Tryptophan 2-Monooxygenase Assay Kit

使用手册 V0.5

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

色氨酸 2-单加氧酶（Tryptophan 2-Monooxygenase，EC1.13.12.3，CAS:37256-65-8）是一种与 FAD 结合的黄素酶，本产品是用于检测色氨酸 2-单加氧酶（TMO）活性的试剂盒。其原理是使用分子氧作为共底物催化 L-色氨酸的氧化脱羧，从而产生吲哚-3-乙酰胺（IAM）和二氧化碳。随后，IAM 在酸性条件下与铁氰化钾反应生成粉红色复合物，在 530 nm 处有特征光吸收，在 530 nm 处测定吸光度（OD 值），TMO 活性与 OD 值正相关。本产品有如下特点：

1. 即开即用，使用便捷，用户不需要优化条件，只需准备待测样本。
2. 最低检测限为 XXX U，线性范围 XXX U-XXX U。
3. 本试剂盒 1 个酶活性单位的定义是在 37℃ pH 7.0-7.5 的条件下，每分钟能催化 1 μmol 吲哚-3-乙酰胺（IAM）所需的酶量。
4. 本产品足够 100 次 1 mL 体系的比色皿检测或 400 次 250 μL 体系的 96 孔板检测。
5. 本产品只可用于科研。

规格及成分

本产品使用塑料袋包装

成份	编号	规格	包装
TMO 活性测定底物干粉	EC1.13.12.3s	100 T	60 mL 本色瓶
TMO 活性测定显色液	EC1.13.12.3c	50 mL	50 mL 棕色瓶
TMO 活性测定反应液	EC1.13.12.3r	40 mL	60 mL 本色瓶
10 mM L-色氨酸溶液	C73-22-3	1 mL	1.5 mL 本色管
使用手册	EC1.13.12.3sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，2-8℃保存，有效期一年。

自备物品

待测样本、样本缓冲液、分光光度计，1 mL 比色皿

使用方法

一、首次使用本试剂盒时配制下列溶液

1. 配制 TMO 活性测定底物液：将 40 mL TMO 活性测定反应液加入到装有 TMO 活性测定底物干粉的瓶中，颠倒摇晃 20 次溶解，得 TMO 活性测定底物液。

二、待测样本的制备

2. 用自选方式制备待测样本，样本溶于水或缓冲液中，缓冲液 pH 值控制为 7.0-7.5。

二、标准曲线梯度稀释液的制备

3. 标准曲线只需做一次，计算得到回归方程即可，下面以 5 个稀释度的标准曲线为例。

4. 标记 1-5 个 1.5 mL 离心管。

5. 分别向 1-5 号管中加入 1、0.8、0.6、0.4、0.2 mL 的 10 mM L-色氨酸溶液，用超纯水补体积至 1 mL，得 10、8、6、4、2 mM 的 L-色氨酸梯度稀释液。

三、用光径 1 cm 的比色皿测定光吸收

6. 标记 N+6 个 1.5 mL 的塑料离心管，其中 N 个用于待测样品，1 个用于阴性对照，5 个用于标曲。

7. 按下表加入各成分：

成分	N 个样本管	阴性对照	5 个标曲管
超纯水	90 μL	100 μL	不加
样本酶液	10 μL	不加	不加
各梯度的 L-色氨酸溶液	不加	不加	各 100 μL
TMO 活性测定底物液	400 μL	400 μL	400 μL
混合均匀 37℃保温 30 min，避光			
TMO 活性测定显色液	500 μL	500 μL	各 500 μL
混合均匀 10 min 避光			

8. 冷却到室温后迅速用分光光度计在 530 nm 测定 OD，测前用蒸馏水调零。

9. 得到的 OD 分别减去阴性对照的 OD 即得 N 个样本的 OD 和 5 个标准曲线样本的 OD。

四、数据分析

10. 以 L-色氨酸浓度为横轴，以 OD530 为纵轴，以 1-5 号 L-色氨酸标准曲线样本的数据用 excel 绘制标准曲线并得到计算公式。

11. 根据计算公式，用 N 个样本的 OD530 数据计算出其所对应的 L-色氨酸浓度。根据 TMO 活性的定义（每分钟催化 1 μmol 吲哚-3-乙酰胺 (IAM) 所需要的酶量为 1 个单位）计算出酶的活性。

关联产品 乳酸脱氢酶活性测定试剂盒