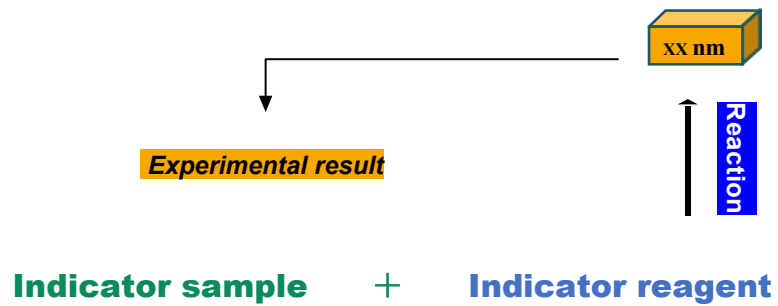


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

单胺氧化酶 (Monoamine Oxidase , MAO) 试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

测定意义

MAO(EC1. 4. 3. 4) 主要存在于脊椎动物的各种器官，特别是分泌腺、脑、肝脏，在无脊椎动物、豆类的芽等植物中也存在催化单胺类物质代谢，含量较低，具有重要的生理功能，其活性能反映肝纤维化的程度。此外，MAO活性异常导致细胞内单胺类神经递质运转出现紊乱，从而引发多种病症。

测定原理

MAO催化单胺类底物脱氨生成相应的醛，进一步氧化成酸；底物在360nm处有特征吸收峰，测定360nm光吸收下降的速率，计算MAO活性。

自备实验用品及仪器

天平、低温离心机、可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿、蒸馏水。

试剂组成和配制：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液一	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	
提取液二	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4℃避光保存	

粗酶液提取

1. 组织：按照组织质量 (g)：提取液体积 (mL) 为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液一）进行冰浴匀浆，10000g，4℃，离心10min，弃沉淀；把上清转移到另一预冷的离心管，10000g，4℃，离心30min，弃上清；加入1.0mL预冷的提取液二，震荡混匀，16000g，4℃，离心40min，弃上清；沉淀加入预冷的1.0 mL试剂一，震荡混匀，即粗酶液（可用于可溶性蛋白浓度测定）取上清置于冰上待测。
2. 细菌、真菌：按照细胞数量 (10⁴个)：提取液体积 (mL) 为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间 3min）；然后10000g，4℃，离心 10min，弃沉淀；把上清转移到另一预冷的离心管，10000g，4℃，离心30min，弃上清；加入1.0 mL 预冷的提取液二，震荡混匀，16000g，4℃，离心 40min，弃上清；沉淀加入预冷的1.0 mL 试剂一，震荡混匀，即粗酶液（可用于可溶性蛋白浓度测定），取上清置于冰上待测。
3. 血清：直接测定。

测定操作表

	空白管	测定管
酶液 (μL)		100
试剂一 (μL)	900	800
试剂二 (μL)	100	100

混匀，1 mL玻璃比色皿，对照管调零，测定360nm处吸光值A1，然后 37°C水浴 60min，测定 360nm 处吸光值 A2， $\Delta A = A1 - A2$ 。

注意：空白管只需测定一次。

MAO 活性计算公式

1、按蛋白含量计算

酶活定义：37°C，pH7.6 时，每毫克蛋白质1min内转化1nmol底物的酶量为一个酶活单位。

$$\text{DAO 活性 (nmol/min/mg prot)} = \Delta A \div \varepsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 114 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2、按样本质量计算

酶活定义：37°C，pH7.6 时，每克样品1min内转化1nmol底物的酶量为一个酶活单位。

$$\text{DAO 活性 (nmol/min/g)} = \Delta A \div \varepsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 114 \times \Delta A \div W$$

3、按照细胞数量计算

酶活定义：37°C，pH7.6 时，每 10^4 个细胞1min内转化1nmol底物的酶量为一个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{DAO 活性 (nmol/min}/10^4\text{cell)} &= \Delta A \div \varepsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \div T \\ &= 114 \times \Delta A \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

4、按照液体体积计算

酶活定义：37°C，pH7.6 时，每升血清1min内转化1nmol底物的酶量为一个酶活单位。

$$\text{DAO 活性 (nmol/min/L)} = \Delta A \div \varepsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 114000 \times \Delta A$$

ε ：底物摩尔消光系数，1.46 L/mol /cm；d：比色皿光径，1cm； $V_{\text{反总}}$ ：反应总体积，1mL； $V_{\text{样}}$ ：反应中样本体积，0.1mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间，60min，W：样本质量，g

注意事项

- 吸光度变化应该控制在 0.01~0.8 之间。否则加大样品量或稀释样品，注意计算公式中参与计算的稀释倍数要相应改变。
- 样品蛋白质含量需要另外测定。