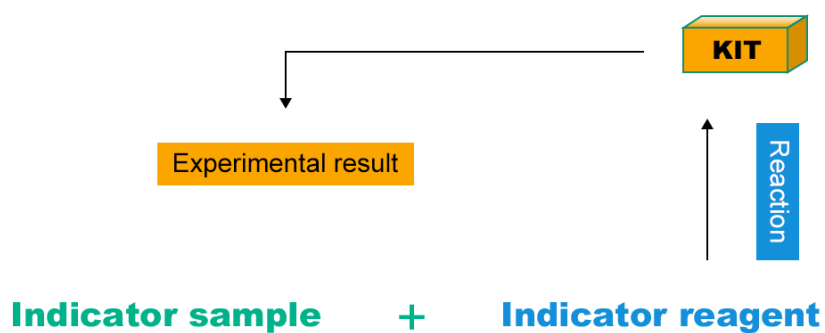


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0463

Size: 100T/96S

单胺氧化酶 (MAO) 检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、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。

二、测定原理:

MAO 催化产生 H₂O₂, 过氧化物酶在有氧存在时催化 H₂O₂ 分解产生的氧又将邻联茴香胺氧化生成有色物质, 颜色深浅与单胺氧化酶活性成线性关系。

三、需自备的仪器和用品:

天平、低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、蒸馏水。

四、试剂的组成和配置:

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 100mL×1 瓶	4℃保存	
提取液二	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 4mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 1mL×1 支	4℃保存	

五、粗酶液提取：

1. 称取约0.1g样品，加1mL预冷的提取液一充分冰浴匀浆，1000g，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1mL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1mL生理盐水或PBS，震荡混匀，即粗酶液（可用于可溶性蛋白浓度测定）。
2. 细菌、真菌：按照细胞数量（ 10^4 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1.0mL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生理盐水或PBS，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。

六、测定步骤

- 1、分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至500nm，蒸馏水调零。
- 2、MAO 检测工作液的配制：用时将试剂二和试剂三转移至试剂一中，充分混匀，待用；用不完的试剂4℃可保存一周；
- 3、测定前将MAO检测工作液在37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）水浴10min以上。
- 4、在微量石英比色皿或96孔板中加入10 μ L样本和240 μ L工作液，立即混匀并计时，记录500nm下20s吸光值A1和1min20s后的吸光值A2。计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

七、MAO 活力单位的计算

- 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1、血清（浆）MAO 活力的计算

单位定义：每mL血清（浆）每分钟催化产生1nmol氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

$$\text{MAO (nmol/min/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 3333 \times \Delta A$$

2、动物组织 MAO 活力的计算

(1) 按蛋白浓度计算

单位定义：每mg组织蛋白每分钟催化产生1nmol 氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

$$\text{MAO (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 3333 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本鲜重计算

单位定义：每g组织每分钟催化产生1nmol 氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{MAO (nmol/min/g 鲜重)} &= [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 3333 \times \Delta A \div W \end{aligned}$$

V反总：反应体系总体积， 2.5×10^{-4} L； ϵ ：氧化型邻联茴香胺摩尔消光系数， 7.5×10^3 L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；V样：加入样本体积，0.01 mL；V样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，1min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

● 用96孔板测定的计算公式如下

1、血清（浆）MAO 活力的计算

单位定义：每mL血清（浆）每分钟催化产生1nmol 氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

$$\text{MAO (nmol/min/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 6666 \times \Delta A$$

2、动物组织 MAO 活力的计算

(1) 按蛋白浓度计算

单位定义：每mg组织蛋白每分钟催化产生1nmol 氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

$$\text{MAO (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 6666 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本鲜重计算

单位定义：每g组织每分钟催化产生1nmol 氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{MAO (nmol/min/g 鲜重)} &= [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 6666 \times \Delta A \div W \end{aligned}$$

V反总：反应体系总体积， 2.5×10^{-4} L； ϵ ：氧化型邻联茴香胺摩尔消光系数， 7.5×10^3 L/mol/cm；d：96孔板光径，0.5cm；V样：加入样本体积，0.01mL；V样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，1min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

八、注意事项：

- 1、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。
- 2、样品蛋白质含量需要另外测定