

单胺氧化酶 (MAO) 活性检测试剂盒 (分光光度计法)

(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0068	单胺氧化酶 (MAO) 活性检测试剂盒	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液一	液体 50mL ×1 瓶	4°C
提取液二	液体 50mL ×1 瓶	4°C
试剂一	液体 100mL ×1 瓶	4°C
试剂二	液体 5mL ×1 瓶	4°C, 避光
临用前根据实验用量取出部分提取液一、提取液二和试剂一置于 4°C 预冷 30min。		

一、产品说明

MAO (EC1.4.3.4) 包括 MAO-A 和 MAO-B, 是一种结合在线粒体外膜上的黄素蛋白, 可催化神经递质和生物胺氧化脱氨。单胺氧化酶与机体老化有关, 被认为是衰老的标志, 其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。

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, 通过测定 360nm 处光吸收下降的速率, 可计算 MAO 活性。

二、自备材料

天平、低温离心机、可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿、蒸馏水。

三、操作步骤

1、组织: 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液一进入冰浴匀浆。1000g 4°C离心 10min, 取上清, 将上清液转移至预冷的离心管, 于 10000g, 4°C离心 30min。弃上清, 沉淀中加入 1mL 预冷的提取液二, 振荡混匀, 于 16000g, 4°C离心 40min, 弃上清, 加入 1mL 试剂一, 振荡混匀, 置冰上待测。

2、细菌或培养细胞: 先收集细胞或细菌样品到离心管内, 弃上清, 按照每 500 万细胞或细菌加入 1mL 提取液一, 超声波破碎细胞或细菌 (功率 200W, 超声 3s, 间隔 7s, 总时间 3min), 10000g, 4°C离心 10min, 取上清, 将上清液转移至预冷的离心管, 于 10000g, 4°C离心 30min。弃上清, 加入 1mL 预冷的提取液二, 振荡混匀, 于 16000g, 4°C离心 40min, 弃上清, 沉淀中加入 1mL 试剂一, 振荡混匀, 置冰上待测。

3、血清 (浆) 样品: 直接检测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 360nm, 蒸馏水调零。

2、按照下表, 依次在 EP 管中加入:

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
待测样本		100
试剂一	900	800
试剂二	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, $\Delta A = A1 - A2$ 。空白管只需测定一次。

五、MAO 活力的计算

1、按照样本蛋白浓度计算:

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。

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

2、按照样本鲜重计算:

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。

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

3、按照细菌/细胞密度计算:

酶活定义: 37°C, pH7.6 时, 每 10⁴ 个细胞 1min 内转化 1nmol 底物的酶量为一个酶活单位。

DAO 活性 (nmol/min/10⁴ cell) = $\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \div T = 114 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$ 。

4、按照血清/血浆体积计算:

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。

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

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; C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL; T: 反应时间, 60min, W: 样本质量, g。

六、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。