

单胺氧化酶 (MAO) 活性检测试剂盒 (微量法)  
(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       |
|---------|---------------------|------------|
| YFX0796 | 单胺氧化酶 (MAO) 活性检测试剂盒 | 100 管/96 样 |

产品内容

| 名称   | 规格            | 储存条件 |
|--|---------------|------|
| 提取液一                                       | 液体 110mL ×1 瓶 | 4°C  |
| 提取液二                                       | 液体 110mL ×1 瓶 | 4°C  |
| 试剂一  | 液体 45mL ×3 瓶  | 4°C  |
| 试剂二  | 液体 3mL ×1 瓶   | 4°C  |
| 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

紫外分光光度计/酶标仪、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱中、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔 UV 板、震荡仪、蒸馏水。

三、样本准备:

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、细胞或细菌: 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 (血浆) 样本: 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、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 360nm, 蒸馏水调零。

2、加样表 (在微量石英比色皿/96 孔 UV 板中依次加入下列试剂):

| 试剂名称 (μL) | 测定管 | 空白管 |
|-----------|-----|-----|
| 待测样本      | 20  |     |
| 试剂一       | 160 | 180 |
| 试剂二       | 20  | 20  |

将上述试剂分别加入微量石英比色皿/96 孔 UV 板中, 迅速吹打混匀, 分别测定 360nm 处第 10s 的吸光值, 记为 A 测定管 1、A 空白管 1; 然后置于 37°C 水浴锅/恒温培养箱中准确反应 2h, 测定 360nm 处吸光值, 记为 A 测定管 2、A 空白管 2, 计算  $\Delta A$  测定 = A 测定管 1 - A 测定管 2,  $\Delta A$  空白 = A 空白管 1 - A 空白管 2。  $\Delta A = \Delta A$  测定 -  $\Delta A$  空白。 **空白管只需测 1-2 次。**

## 五、活性的计算

### A. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下:

#### 1、按照样本蛋白质浓度计算:

酶活定义: pH7.6、37°C 时, 每 mg 组织蛋白每 min 消耗 1nmol 底物的酶量为一个酶活单位。

MAO 活性 (U/mg prot) =  $\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 57.08 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$ 。

#### 2、按照样本质量计算:

酶活定义: pH7.6、37°C 时, 每 mg 组织每 min 消耗 1nmol 底物定义的酶量为一个酶活单位。

MAO 活性 (U/g 质量) =  $\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 57.08 \times \Delta A \div W$ 。

#### 3、按照细菌/细胞数量计算:

酶活定义: pH7.6、37°C 时, 每  $10^4$  细菌/细胞每 min 消耗 1nmol 底物的酶量为一个酶活单位。

MAO 活性 (U/ $10^4$  cell) =  $\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \div T$

=  $57.08 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$ 。

#### 4、按照样本体积计算

酶活定义: pH7.6、37°C 时, 每 mL 液体样本每分钟消耗 1nmol 底物的酶量为一个酶活单位。

MAO 活性 (U/mL) =  $\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div V_{\text{样}} \div T = 57.08 \times \Delta A$ 。

$\epsilon$ : 底物摩尔消光系数: 1460L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm;  $V_{\text{反总}}$ : 反应总体积, 0.0002L;

$V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.02mL,  $V_{\text{样总}}$ : 提取液体积, 1mL;  $C_{\text{pr}}$ : 样本蛋白质浓度, mg/mL;

W: 样本质量, g; T: 反应时间, 120min;  $10^9$ : 单位换算系数, 1mol =  $10^9$ nmol。

### B. 用 96 孔 UV 板测定的计算公式如下:

#### 1、按照样本蛋白浓度计算:

酶活定义: pH7.6、37°C 时, 每 mg 组织蛋白每 min 消耗 1nmol 底物的酶量为一个酶活单位。

MAO (U/mg prot) =  $\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 95.13 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$ 。

#### 2、按照样本鲜重计算:

酶活定义: pH7.6、37°C 时, 每 g 组织每分钟消耗 1nmol 底物的酶量定义为一个酶活单位。

MAO (U/g 质量) =  $\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 95.13 \times \Delta A \div W$ 。

#### 3、按照细胞或者细菌数量计算:

酶活定义: pH7.6、37°C 时, 每  $10^4$  细菌/细胞每分钟消耗 1nmol 底物的酶量为一个酶活单位。

MAO (U/ $10^4$  cell) =  $\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \div T$

=  $95.13 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$ 。

4、按照样本体积计算:

酶活定义: pH7.6、37°C时, 每 mL 液体样本每分钟消耗 1nmol 底物的酶量为一个酶活单位。

MAO 活性 (nmol/min/mL) =  $\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div V_{\text{样}} \div T = 95.13 \times \Delta A$ 。

$\epsilon$ : 底物摩尔消光系数: 1460L/mol/cm; d: 比色皿光径, 0.6cm;  $V_{\text{反总}}$ : 反应总体积, 0.0002L;  
 $V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.02mL,  $V_{\text{样总}}$ : 提取液体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;  
W: 样本质量, g; T: 反应时间, 120min;  $10^9$ : 单位换算系数, 1mol=10<sup>9</sup>nmol。