

单胺氧化酶（Monoamine Oxidase, MAO）试剂盒说明书

（货号：G0140F 分光法 48 样）

一、产品简介：

单胺氧化酶（MAO，EC 1.4.3.4）是催化单胺类物质氧化脱氨反应的酶。单胺氧化酶存在于细胞的线粒体外膜上，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。

单胺氧化酶（MAO）催化单胺类底物脱氨生成相应的醛和过氧化氢，产物过氧化氢与 4-氨基替吡啶等反应产生一种有色物质，其在 510nm 处有最大吸收峰。通过检测 510nm 处吸光值的变化量得出 MAO 酶活性大小。

二、试剂盒组成和配置：

试剂名称	规格	保存要求
提取液一	液体 60mL×1 瓶	4°C 保存
提取液二	液体 60mL×1 瓶	4°C 保存
提取液三	液体 60mL×1 瓶	4°C 保存
试剂一	液体 5mL×1 瓶	4°C 保存
试剂二	液体 20mL×1 瓶	4°C 保存
试剂三	液体 4mL×1 瓶	4°C 保存

三、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、可调式移液器、天平、低温离心机、蒸馏水。

四、单胺氧化酶（MAO）活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品和实验流程，避免样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：

称取约 0.1g 样品，加 1 mL 的 4°C 预冷提取液一充分冰浴匀浆，1000g，4°C，离心 10min，弃沉淀；把上清转移到另一预冷的离心管，10000g，4°C，离心 10min，弃上清，留沉淀；向沉淀中加入 1mL 的 4°C 预冷提取液二，震荡混匀，10000g，4°C，离心 15min，完全弃掉上清，留沉淀；向沉淀中加入 1mL 的 4°C 预冷提取液三，震荡混匀，置于冰上，作为待检测样本(可直接用于蛋白浓度测定)。

② 细胞样本：称取约 500 万细胞或细菌，加 1 mL 的 4°C 预冷提取液一充分冰浴匀浆，1000g，

4°C，离心 10min，弃沉淀；把上清转移到另一预冷的离心管，10000g，4°C，离心 10min，弃上清，留沉淀；向沉淀中加入 1mL 的 4°C 预冷提取液二，震荡混匀，10000g，4°C，离心 15min，完全弃掉上清，留沉淀；向沉淀中加入 1mL 的 4°C 预冷提取液三，震荡混匀，置于冰上，作为待检测样本(可直接用于蛋白浓度测定)。

③ 液体样本：直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测：

① 可见分光光度计预热 30min，调节波长至 510nm，蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至室温（25°C）。

③ 在 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管
样本	160
试剂一	100
试剂二	400
试剂三	80
混匀, 37°C下, 立即在 510nm 处读取吸光值 A1, 60min 后读取 A2, $\Delta A=A2-A1$ 。	

五、结果计算:

1、按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 每毫克组织蛋白每小时在反应体系中使 510nm 吸光值变化 0.001 为一酶活单位。

$$\text{MAO}(\Delta \text{OD}_{510}/\text{min}/\text{mg prot}) = \Delta A \div (V1 \times \text{Cpr}) \div 0.001 \div T = 104.2 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2、按样本质量计算:

酶活定义: 每克组织每分钟在反应体系中使 510nm 处吸光值变化 0.001 为一个酶活单位。

$$\text{MAO 活性}(\Delta \text{OD}_{510}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = \Delta A \div (W \times V1 \div V) \div 0.001 \div T = 104.2 \times \Delta A \div W$$

3、按细胞数量计算:

酶活定义: 每百万细胞每分钟在反应体系中使 510nm 处吸光值变化 0.001 为一个酶活单位。

$$\text{MAO 活性}(\Delta \text{OD}_{510}/\text{min}/10^6) = \Delta A \div (5 \times V1 \div V) \div 0.001 \div T = 104.2 \times \Delta A \div 5$$

4、按液体体积计算:

酶活定义: 每毫升液体每分钟在反应体系中使 510nm 处吸光值变化 0.001 为一个酶活单位。

$$\text{MAO 活性}(\Delta \text{OD}_{510}/\text{min}/\text{mL}) = \Delta A \div V1 \div 0.001 \div T = 104.2 \times \Delta A$$

V---加入提取液体积, 1mL;

V1---反应中样本体积, 0.16mL;

W---样本质量, g; T---反应时间, 60min; 5---细胞数量, 百万;

Cpr---样本蛋白浓度, mg/mL; 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。