

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

(货号: G0140W 微板法 96 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-氨基氨基替吡啉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 100mL×1 瓶	4°C 保存
提取液二	液体 100mL×1 瓶	4°C 保存
提取液三	液体 100mL×1 瓶	4°C 保存
试剂一	液体 3mL×1 瓶	4°C 保存
试剂二	液体 11mL×1 瓶	4°C 保存
试剂三	液体 2mL×1 支	4°C 保存

### 三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、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, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

#### 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 酶标仪预热 30min, 调节波长至 510nm。
- ② 所有试剂解冻至室温 (25°C)。
- ③ 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	40
试剂一	30
试剂二	110
试剂三	20
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。

$$\text{MAO}(\Delta \text{OD}_{510} / \text{min} / \text{mg prot}) = \Delta A \div (V1 \times \text{Cpr}) \div 0.001 \div T = 416.7 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

### 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。

$$\text{MAO 活性}(\Delta \text{OD}_{510} / \text{min} / \text{g 鲜重}) = \Delta A \div (W \times V1 \div V) \div 0.001 \div T = 416.7 \times \Delta A \div W$$

### 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。

$$\text{MAO 活性}(\Delta \text{OD}_{510} / \text{min} / 10^6) = \Delta A \div (5 \times V1 \div V) \div 0.001 \div T = 416.7 \times \Delta A \div 5$$

### 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。

$$\text{MAO 活性}(\Delta \text{OD}_{510} / \text{min} / \text{mL}) = \Delta A \div V1 \div 0.001 \div T = 416.7 \times \Delta A$$

V---加入提取液体积, 1mL;

V1---反应中样本体积, 0.04mL;

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。