

单胺氧化酶 (Monoamine Oxidase, MAO) 试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

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。

测定原理:

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, 测定 360nm 光吸收下降的速率, 计算 MAO 活性。

试剂组成和配制:

产品名称	OT020-50T/48S	Storage
提取液: 液体	50ml	4°C
提取液: 液体	50ml	4°C
试剂一: 液体	100ml	4°C
试剂二: 液体	5ml	4°C避光
说明书	一份	

需自备仪器和用品:

天平、低温离心机、可见分光光度计、1 ml 玻璃比色皿、蒸馏水。

粗酶液提取:

1、组织:

按照组织质量 (g) : 提取液体积(ml)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1ml 提取液一) 进行冰浴匀浆, 10000g, 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 30min, 弃上清; 加入 1.0 ml 预冷的提取液二, 震荡混匀, 16000g, 4°C, 离心 40min, 弃上清; 沉淀加入预冷的 1.0 ml 试剂一, 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。

2、细菌、真菌:

按照细胞数量 (10⁴ 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°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 30min, 弃上清; 加入 1.0 ml

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



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 试剂一，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。

测定步骤：

试剂名称(μl)	空白管	测定管
酶液 (μl)		100
试剂一 (μl)	900	800
试剂二 (μl)	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℃水浴60min，测定360nm处吸光值A2， $\Delta A = A_1 - A_2$ 。注意：空白管只需测定一次。

MAO 活性计算公式：

1、按蛋白含量计算

酶活定义：37℃，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。

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

2、按样本质量计算

酶活定义：37℃，pH7.6时，每克样品1min内转化1nmol底物的酶量为一个酶活单位。

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

3、按照细胞数量计算

酶活定义：37℃，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。

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

$$= 114 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

4、按照液体体积计算

酶活定义：37℃，pH7.6时，每升血清1min内转化1nmol底物的酶量为一个酶活单位。

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

ϵ ：底物摩尔消光系数，1.46 L/mol /cm；d：比色皿光径，1cm；V反总：反应总体积，1ml；V样：反应中样本体积，0.1ml；V样总：加入提取液体积，1ml；Cpr：样本蛋白浓度，mg/ml；T：反应时间，60min，W：样本质量，g



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。

