

单胺氧化酶（MAO）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：AC10069

规格：50T/24S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 60 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	液体 6 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三 A 液	液体 2.5 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三 B 液	液体 10 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂四	液体 0.6 mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8°C保存

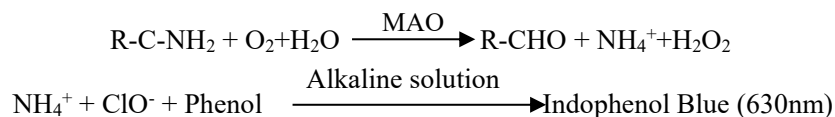
溶液的配制：

- 1、试剂三：临用前根据样本量将试剂三 A 液：试剂三 B 液=40 μ L：160 μ L（共 200 μ L，1T）的比例配制，现配现用。
- 2、试剂四：液体置于试剂瓶内 EP 管中，使用前需先离心。临用前加入 11.4mL 蒸馏水，充分混匀，待用，用不完的试剂 2-8°C保存 2 周。
- 3、标准品：1mg/mL 氮标准品。
- 4、10 μ g/mL 氮标准品配制：吸取 10 μ L 1mg/mL 氮标准品，加入 990 μ L 蒸馏水充分混匀。

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，利用靛酚蓝比色法测定产生的NH₄⁺，其产物在630nm处具有特征吸收峰，通过测定630nm处的吸光度可计算MAO酶活性。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织：按照质量（g）：试剂一体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g，加入1mL试剂一）加入试剂一，冰浴匀浆后，10000g，4℃离心10min，取上清置冰上待测。
2. 细胞/细菌：按照细胞/细菌数量（10⁶个）：试剂一体积（mL）为5~1：1的比例（建议5百万细胞/细菌加入1mL试剂一），冰浴超声波破碎细胞/细菌（功率200w，超声3秒，间隔10秒，总时间3min）；10000g，4℃离心10min，取上清置冰上待测。
3. 血浆/血清等液体样本：直接测定。

二、测定步骤

- 1、分光光度计预热30min以上，调节波长至630nm，蒸馏水调零。
- 2、样本测定（在1.5mL EP管中依次加入以下试剂）：

试剂名称（μL）	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	100	-	-	-
标准品	-	-	100	-
蒸馏水	-	-	-	100
试剂一	400	400	400	400
试剂二	100	100	100	100
充分混匀，37℃反应20min			-	-
试剂三	200	200	200	200
试剂四	200	200	200	200
样本	-	100	-	-

充分混匀，常温放置20min，于630nm下读取吸光度，分别记为A测定、A对照、A标准、A空白，计算ΔA测定=A测定-A对照、ΔA标准=A标准-A空白。标准管和空白管只需测1-2次。

三、MAO活性的计算

（1）按样本蛋白浓度计算

单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟产生1μg铵态氮（NH₃-N）定义为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned} \text{MAO活性 (U/mg prot)} &= \Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{提取}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{提取}}) \div T \times F \\ &= 0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times F \end{aligned}$$

（2）按样本质量计算

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟产生1μg铵态氮（NH₃-N）定义为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned} \text{MAO活性 (U/g 质量)} &= \Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{样本}} \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \div T \times F \\ &= 0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F \end{aligned}$$

（3）按细菌或细胞数量计算

单位的定义：每1百万个细菌或细胞在反应体系中每分钟产生1μg铵态氮（NH₃-N）定义为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned} \text{MAO活性 (U/10}^6 \text{ cell)} &= \Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{样本}} \div (N \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \div T \times F \\ &= 0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div N \times F \end{aligned}$$

（4）按液体体积计算

单位的定义：每mL液体在反应体系中每分钟产生1μg NH₄⁺定义为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned} \text{MAO活性 (U/mL)} &= \Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样本}} \div T \times F \\ &= 0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F \end{aligned}$$

C标准: 标准品浓度, 10 μ g/mL; V样本: 加入样本体积, 0.1mL; V提取: 加入试剂一体积, 1mL; T: 反应时间, 20min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; N: 细菌或细胞总数, 以百万计; F: 稀释倍数。

注意事项:

- 1、若 ΔA 大于1, 需将样本用蒸馏水稀释后测定, 注意同步修改计算公式; 若 ΔA 小于0.01, 可延长37 $^{\circ}$ C反应时间或增大样本量后测定, 同步修改计算公式。

实验实例:

- 1、取 0.108g 绿豆芽加入 1mL 试剂一, 用冰浴匀浆器匀浆充分研磨, 4 $^{\circ}$ C 10000g 离心 10min, 取上清置冰上待测。按照测定步骤操作, 用 1mL 玻璃比色皿测得计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照=0.101-0.069=0.032, ΔA 标准=A 标准-A 空白=0.436-0.070=0.366, 按样本质量计算酶活得:
MAO 活性 (U/g 质量) =0.5 \times ΔA 测定 \div ΔA 标准 \div W =0.405 U/g 质量。
- 2、取 0.110g 大鼠脑加入 1mL 试剂一, 用冰浴匀浆器匀浆充分研磨, 4 $^{\circ}$ C 10000g 离心 10min, 取上清置冰上待测。按照测定步骤操作, 用 1mL 玻璃比色皿测得计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照=0.491-0.065=0.426, ΔA 标准=A 标准-A 空白=0.436-0.070=0.366, 按样本质量计算酶活得:
MAO 活性 (U/g 质量) =0.5 \times ΔA 测定 \div ΔA 标准 \div W =5.291 U/g 质量。
- 3、取 30 μ L 大鼠血浆, 按照测定步骤操作, 用 1mL 玻璃比色皿测得计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照=0.856-0.078=0.778, ΔA 标准=A 标准-A 空白=0.436-0.070=0.366, 按样本体积计算酶活得:
MAO 活性 (U/mL) =0.5 \times ΔA 测定 \div ΔA 标准=1.063 U/mL。

参考文献:

- [1] H. Soep.The determination of monoamine oxidase activity : Pure and Applied Chemistry[J].Analytical Chemistry, 2009, 45(1):118-24.DOI:10.1021/ac60323a027

相关系列产品:

- AC10279/AC10280 二胺氧化酶 (DAO) 活性检测试剂盒
AC10333/AC10334 谷丙转氨酶 (GPT/ALT) 活性检测试剂盒
AC10335/AC10336 谷草转氨酶 (GOT/AST) 活性检测试剂盒