

## 单胺氧化酶（MAO）活性检测试剂盒说明书

微量法

**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：**AC10070

**规格：**100T/48S

**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 75 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	液体 3.5 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三 A 液	液体 1.5 mL×1 支	2-8°C保存
试剂三 B 液	液体 6 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂四	液体 0.35 mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8°C保存

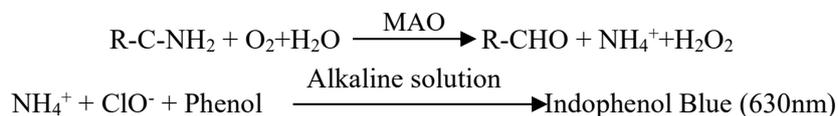
溶液的配制：

- 1、试剂三：临用前根据样本量将试剂三 A 液：试剂三 B 液=12μL：48μL（共 60μL，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 6.65mL 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、10μg/mL 氮标准品配制：吸取 10μL 1mg/mL 氮标准品，加入 990μL 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NH<sub>4</sub><sup>+</sup>，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/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、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（10<sup>6</sup>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、分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至630nm，分光光度计用蒸馏水调零。

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	30	-	-	-
标准品	-	-	30	-
蒸馏水	-	-	-	30
试剂一	120	120	120	120
试剂二	30	30	30	30
充分混匀，37℃反应20min		-		
试剂三	60	60	60	60
试剂四	60	60	60	60
样本	-	30	-	-

充分混匀，常温放置20min，吸取200μL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（NH<sub>3</sub>-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（NH<sub>3</sub>-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（NH<sub>3</sub>-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铵态氮（NH<sub>3</sub>-N）定义为一个酶活性单位。

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

$$=0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F$$

C标准：标准品浓度，10 $\mu$ g/mL；V样本：加入样本体积，0.03mL；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 $\Delta A$ 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 $\Delta A$ 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 96 孔板测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.059 - 0.043 = 0.016$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.294 - 0.062 = 0.232$ ，按样本质量计算酶活得：  
MAO 活性 (U/g 质量) =  $0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 0.319$  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 96 孔板测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.274 - 0.103 = 0.171$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.294 - 0.062 = 0.232$ ，按样本质量计算酶活得：  
MAO 活性 (U/g 质量) =  $0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 3.350$  U/g 质量。
- 3、取 30 $\mu$ L 大鼠血浆，按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.484 - 0.057 = 0.427$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.294 - 0.062 = 0.232$ ，按样本体积计算酶活得：  
MAO 活性 (U/mL) =  $0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} = 0.920$  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