

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

（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 100mL×1 瓶	4℃保存
提取液二	液体 100mL×1 瓶	4℃保存
提取液三	液体 100mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	液体 3mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	液体 11mL×1 瓶	4℃保存
试剂三	液体 2mL×1 支	4℃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℃ 预冷提取液一充分冰浴匀浆，1000g，4℃，离心 10min，弃沉淀；把上清转移到另一预冷的离心管，10000g，4℃，离心 10min，弃上清，留沉淀；向沉淀中加入 1mL 的 4℃ 预冷提取液二，震荡混匀，10000g，4℃，离心 15min，完全弃掉上清，留沉淀；向沉淀中加入 1mL 的 4℃ 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 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℃）。

③ 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（ $\mu\text{L}$ ）	测定管
样本	40
试剂一	30
试剂二	110
试剂三	20
混匀，37℃ 下，立即在 510nm 处读取吸光值 A1，60min 后读取 A2， $\Delta A=A2-A1$ 。	

【注】若 $\Delta A$  差值较小，则需增加样本量  $V_1$ （如增至  $80\mu\text{L}$ ，则试剂二相应减少），或延长反应时间  $T$ （如增加至  $2\text{h}$  或更长），则改变后的加样体积  $V_1$  和反应时间  $T$  需加入计算公式重新计算。

## 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  $510\text{nm}$  吸光值变化  $0.001$  为一酶活单位。

$$\text{MAO} (\Delta\text{OD}_{510}/\text{min}/\text{mg prot}) = \Delta A \div (V_1 \times \text{Cpr}) \div 0.001 \div T = 416.7 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

### 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  $510\text{nm}$  处吸光值变化  $0.001$  为一个酶活单位。

$$\text{MAO 活性} (\Delta\text{OD}_{510}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = \Delta A \div (W \times V_1 \div V) \div 0.001 \div T = 416.7 \times \Delta A \div W$$

### 3、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  $510\text{nm}$  处吸光值变化  $0.001$  为一个酶活单位。

$$\text{MAO 活性} (\Delta\text{OD}_{510}/\text{min}/\text{mL}) = \Delta A \div V_1 \div 0.001 \div T = 416.7 \times \Delta A$$

$V$ ---加入提取液体积， $1\text{mL}$ ；

$V_1$ ---反应中样本体积， $0.04\text{mL}$ ；

$W$ ---样本质量， $\text{g}$ ；

$T$ ---反应时间， $60\text{min}$ ；

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