

单胺氧化酶(MAO)检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1218

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/48S 96T/96S

适用样本：动植物组织、细胞、血清（浆）等液体样本

产品简介

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。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于检测各种生物样本中的 MAO 活性，其原理是 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。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	10mL	20mL	4℃保存
试剂二	1mL	2mL	4℃避光保存

自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测 360nm 处的吸光值）及恒温培养箱
96 孔 UV 微孔板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头
低温离心机、制冰机
去离子水
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：小管试剂开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

样本制备

组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 预冷的提取液，冰浴匀浆，12000g，4℃，离心 10min，取上清置于冰上待测。

细胞：收集 500 万细胞到离心管内，用冷 PBS 清洗，离心后弃上清，加入 1mL 预冷的提取液，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 12000g，4℃，离心 10min，取上清置于冰上待测。

血清、血浆等液体样本：直接检测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 Bradford 蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

产品说明书

1. 酶标仪或紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 360nm，紫外分光光度计去离子水调零。
2. 操作表（下述操作在 96 孔 UV 微孔板或微量石英比色皿中操作）：

试剂（ μL ）	空白管	测定管
样本	0	20
提取液	20	0
试剂一	160	160
试剂二	20	20

混匀，测定 360nm 处吸光值 A_1 ，然后 37°C 水浴 60min，测定 360nm 处吸光值 A_2 。 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测}1} - A_{\text{测}2}$ ； $\Delta A_{\text{空}} = A_{\text{空}1} - A_{\text{空}2}$ ； $\Delta \Delta A_{\text{测}} = \Delta A_{\text{测}} - \Delta A_{\text{空}}$ 。（空白只需做一次）

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。 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.001 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 0.8，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以最终稀释倍数。

结果计算

A. 用 96 孔板测定的计算公式如下：

1、按蛋白浓度计算

单位定义：37°C，pH7.6 时，每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟转化 1nmol 底物的酶为一个酶活单位 U。

MAO 活性 (U/mg prot) = $[\Delta \Delta A_{\text{测}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 228.31 \times \Delta \Delta A_{\text{测}} \div \text{Cpr}$

2、按样本质量计算

单位定义：37°C，pH7.6 时，每 g 组织在反应体系中每分钟转化 1nmol 底物的酶为一个酶活单位 U。

MAO 活性 (U/g) = $[\Delta \Delta A_{\text{测}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 228.31 \times \Delta \Delta A_{\text{测}} \div W$

3、按细胞数计算

单位定义：37°C，pH7.6 时，每 1 万个细胞在反应体系中每分钟转化 1nmol 底物的酶为一个酶活单位 U。

MAO 活性 (U/ 10^4 cell) = $[\Delta \Delta A_{\text{测}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 0.457 \times \Delta \Delta A_{\text{测}}$

4、按照液体体积计算

单位定义：37°C，pH7.6 时每 mL 液体样本在反应体系中每分钟转化 1nmol 底物的酶为一个酶活单位 U。

MAO 活性 (U/mL) = $[\Delta \Delta A_{\text{测}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 228.31 \times \Delta \Delta A_{\text{测}}$

ϵ ：底物摩尔消光系数，1460 L/mol/cm； d ：96 孔板直径，0.5cm； $V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中样本体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：提取时加入提取液体积，1mL； T ：反应时间，60min； W ：样本质量，g；500：细胞总数，500 万； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL。

B. 使用微量比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径 d ：0.5cm 调整为 d ：1cm 进行计算即可。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1036 超氧化物歧化酶 (SOD) 检测试剂盒 (WST-8 法)

PMK1038 过氧化物酶 (POD) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1042 葡萄糖氧化酶 (GOD) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1225 锰过氧化物酶 (MnP) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

