



## 单胺氧化酶活性检测试剂盒

### MAO Assay Kit

微量法

产品编号: AK474M

产品规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES474-1	100mL×1 瓶	4℃保存;
ES474-2	100mL×1 瓶	4℃保存;
AK474-A	120mL×1 瓶	4℃保存;
AK474-B	2mL×1 瓶	4℃避光保存;

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

**意义:** 单胺氧化酶 (Monoamine Oxidase, 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。

**原理:** MAO 催化单胺类底物脱氢生成相应的醛, 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。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板 (UV 板)、天平、低温离心机、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 ES474-1) 进行冰浴匀浆, 10000g, 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 30min, 弃上清; 加入 1.0 mL 预冷的 ES474-2, 震荡混匀, 16000g, 4℃, 离心 40min, 弃上清; 沉淀加入预冷的 1.0 mL AK474-A, 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 ( $10^4$  个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL ES474-1), 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℃, 离心 10min, 弃沉淀; 把上清转移到另一预冷的离心管, 10000g, 4℃, 离心 30min, 弃上清; 加入 1.0 mL 预冷的 ES474-2, 震荡混匀, 16000g, 4℃, 离心 40min, 弃上清; 沉淀加入预冷的 1.0 mL AK474-A, 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:

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min, 调节波长至 360nm。
2. 样本测定: 在微量石英比色皿/96 孔板中加入下列试剂

试剂名称	空白管 (μL)	测定管 (μL)
酶液		20
AK474-A	180	160
AK474-B	20	20

混匀, 于微量石英比色皿/96 孔板 (UV 板), 对照管调零, 测定 360nm 处吸光值 A1, 然后 37℃ 水浴 60min, 对照管调零, 测定 360nm 处吸光值 A2, 计算  $\Delta A = A1 - A2$

注意: 空白管只需测定一次。

## MAO 活性计算公式：

### a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

#### 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。

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

#### 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。

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

#### 3. 按照细胞数量计算

酶活定义：37℃，pH7.6 时，每 10<sup>4</sup> 个细胞 1min 内转化 1nmol 底物的酶量为一个酶活单位。

$$\text{DAO 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V \text{ 反总} \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times \text{细胞数量}) \div T = 114 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

#### 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。

$$\text{DAO 活性(U/L)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V \text{ 反总} \div V \text{ 样} = 114 \times \Delta A$$

**注：**ε：底物摩尔消光系数，1460L /mol /cm；d：比色皿光径，1cm；V 反总：反应总体积，0.2mL；V 样：反应中样本体积，0.02mL；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。

### b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

#### 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 1 nmol 底物的酶量为一个酶活单位。

$$\text{DAO 活性(U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V \text{ 反总} \div (V \text{ 样} \times \text{Cpr}) \div T = 228 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

#### 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。

$$\text{DAO 活性 (U/g 鲜重)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V \text{ 反总} \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times W) \div T = 228 \times \Delta A \div W$$

#### 3. 按照细胞数量计算

酶活定义：37℃，pH7.6 时，每 10<sup>4</sup> 个细胞 1min 内转化 1nmol 底物的酶量为一个酶活单位。

$$\text{DAO 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V \text{ 反总} \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times \text{细胞数量}) \div T = 228 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

#### 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。

$$\text{DAO 活性(U/L)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V \text{ 反总} \div V \text{ 样} = 228 \times \Delta A$$

**注：**ε：底物摩尔消光系数，1460L /mol /cm；d：96 孔板光径，0.5cm；V 反总：反应总体积，0.2mL；V 样：反应中样本体积，0.02mL；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。