

单胺氧化酶(MAO)检测试剂盒(醛苯胺微板法)

产品简介

单胺氧化酶(Monoamine Oxidase, MAO)是一组催化多种单胺类化合物氧化脱氨的酶,属于细胞外酶,含有铜离子,分布于肝脏、肾脏等组织的线粒体内,其含量分布为肝脏>心脏>肾脏>脑>肺>骨骼肌,血小板、胎盘中也含有MAO。线粒体中的MAO与膜紧密结合,仅少量为可溶性的,存在于细胞质中,血液和结缔组织中的MAO为水溶性。

单胺氧化酶(MAO)检测试剂盒(醛苯胺微板法)其检测原理是待测样品在MAO作用下,氧化底物苄胺生成苄醛,后者经催化反应生成醛苯胺呈棕红色,通过酶标仪检测470nm处吸光度,根据标准曲线即可测出MAO活力,100T试剂盒可检测样本数约为45个。该产品仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成

名称 \ 编号	ADS037TE0 100T	Storage
试剂(A): 苄醛标准(5mmol/L)	1ml	4°C 避光
试剂(B): MAO Assay buffer	30ml	RT
试剂(C): 苄胺缓冲液	1ml	4°C 避光
试剂(D): 苄醛显色液	5ml	4°C 避光
试剂(E): 苄醛显色缓冲液	20ml	RT
使用说明书	1份	

自备材料

- 1、蒸馏水
- 2、离心管或小试管、精密天平
- 3、酶标仪、96孔板、恒温箱或水浴锅

操作步骤(仅供参考)

1、准备样品:

- ①血浆、血清和尿液样品: 血浆、血清按照常规方法制备,可以直接用于本试剂盒的测定,尿液通常也可以直接用于测定, -20°C冻存,用于MAO的检测。
- ②细胞或组织样品: 取恰当细胞或组织进行匀浆,低速离心取上清, -20°C冻存,用于MAO的检测。

③高活性样品：如果样品中含有较高活性的MAO，可以使用MAO Assay buffer稀释。

2、稀释标准品：用MAO Assay buffer稀释苄醛标准(5mmol/L)至0.5mmol/L，即为苄醛标准工作液(0.5mmol/L)，4℃保存备用，按下表制备标准曲线。

加入物(μl)	1	2	3	4	5	6
苄醛标准工作液(0.5mmol/L)	0.8	1.6	3.2	6.4	9.6	12.8
MAO Assay buffer	59.2	58.4	56.8	53.6	50.4	47.2
相当于苄醛(nmol/孔)	0.4	0.8	1.6	3.2	4.8	6.4
相当于 MAO 单位(nmol/h·ml)	12.5	25	50	100	150	200

3、MAO加样：按照下表设置空白管、对照管、标准管、测定管，溶液应按照顺序依次加入(96孔板中)，并注意避免产生气泡。如样品中的酶活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。

加入物(μl)	空白管	标准管	对照管	测定管
待测样品(如血清等)	—	—	16	16
MAO Assay buffer	—	—	40	40
苄胺缓冲液	—	—	—	4
混匀，37℃水浴 2h				
MAO Assay buffer	60	—	—	—
系列标准品(1~6号)	—	60	—	—
苄醛显色液	40	40	40	40
苄胺缓冲液	—	—	4	—
混匀，37℃水浴 20min				
苄醛显色缓冲液	160	160	160	160

4、MAO测定：混匀，96孔板中以蒸馏水调零，酶标仪470nm处测定各孔吸光度(记为 $A_{空白}$ 、 $A_{标准}$ 、 $A_{对照}$ 、 $A_{测定}$)。

计算：MAO活性单位的定义：在37℃1ml血清中MAO1h催化底物产生1nmol苄醛为一个MAO酶活力单位，根据酶活性定义计算出样品中的MAO活性。

以60μl系列标准品(1~6号)所含苄醛nmol数对应的MAO活性单位(nmol/h·ml)为横坐标，以($A_{标准}-A_{空白}$)吸光度之差值为纵坐标，绘制标准曲线，用待测样品($A_{测定}-A_{对照}$)吸光度之差值在标准曲线上查出待测样品的MAO活性。当酶活力高于200U/ml时，应将样品适当稀释后重新测定，结果乘以稀释倍数。

$$\begin{aligned}
 & \text{标准曲线制作中各管MAO活性单位(U/ml或nmol/h·ml)} \\
 & = \text{苄醛nmol数}/(2 \times 0.016)
 \end{aligned}$$

$$= \text{苜醛nmol数} \times 31.25$$

血清MAO活力(U/ml或nmol/h·ml)

$$= \text{苜醛nmol数} \times N / (t \times V_s)$$

$$= \text{苜醛nmol数} \times 31.25 \times N$$

=标曲中查出的样品MAO活性×N

组织MAO活力(U/mg或nmol/h·mg)

$$= \text{苜醛nmol数} \times V_T \times N / (t \times V_s \times m)$$

$$= \text{苜醛nmol数} \times 31.25 \times V_T \times N / m$$

=标曲中查出的样品MAO活性×V_T×N/m

式中：V_T=待测样品总体积(ml)

N=待测样品检测前的稀释倍数

V_s=检测时所用样品体积(ml)=0.016

t=反应时间(h)=2

m=待测样品质量(mg)

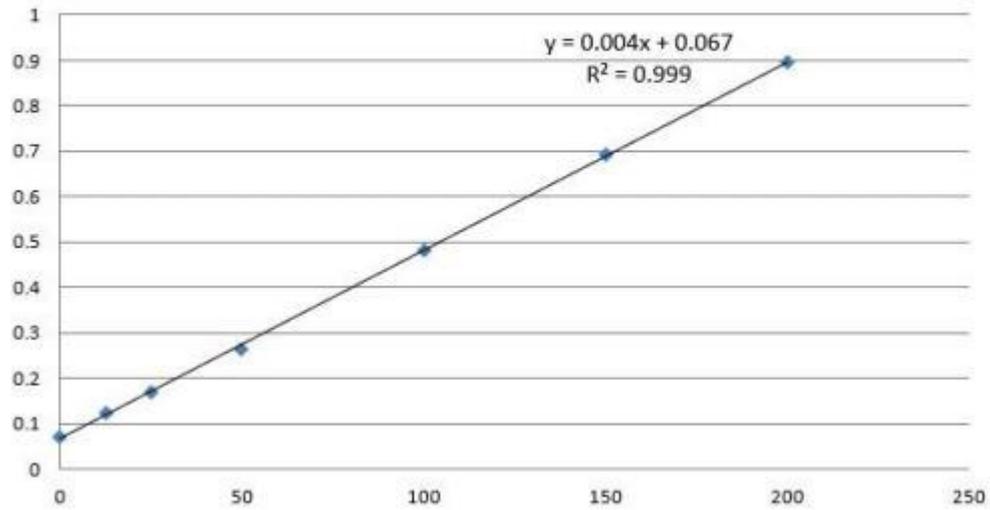
注意事项

- 1、胆红素浓度小于257μmol/L，血红蛋白浓度小于4g/L，对MAO活力检测没有影响。
- 2、标准曲线制作中各管苜醛nmol数乘以31.25得MAO活性单位数。
- 3、若将上述定义的酶活性单位更换为国际单位，应除以60。
- 4、加入苜醛显色缓冲液后，应1h内检测完毕。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：6个月。低温运输，按要求保存。

附录：参考标准曲线范围：在室温条件下通过分光光度计470nm测定MAO活性标准在0、12.5、25、50、100、150、200U/ml时的吸光度，并做出其标准曲线如下：

单胺氧化酶(MAO)检测试剂盒(醛苯腓比色法)



注意：由于检测仪器和操作手法等条件的不同，参考值范围会有不同，该值仅供参考，对于要求精确计算苯醛含量的，可以进行多点重复测定；根据测定经验显示12.5U/ml以下、200U/ml以上标准曲线会有偏差。