

单胺氧化酶（Monoamine Oxidase, MAO）试剂盒说明书

（货号：ADS-W-QT003 微板法 96 样 有效期：3 个月）

一、指标介绍：

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-氨基萘替吡啉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：

试剂组分	试剂规格	存放温度
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℃ 避光保存

三、实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取：

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。

③ 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取 500 万细菌或细胞加 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，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（ 10^4 个）：提取液（mL）为 1000~5000:1 比例进行提取。

2、检测步骤：

① 酶标仪预热 30min（等待仪器过自检程序亦可），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：

试剂组分 (μL)	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 ΔA 差值较小, 则需增加样本量 V1 (如增至 80μL, 则试剂二相应减少), 或延长反应时间 T (如增加至 2h 或更长), 则改变后的加样体积 V1 和反应时间 T 需加入计算公式重新计算。

五、结果计算：

1、按样本质量计算：

酶活定义：每克组织每分钟在反应体系中使 510nm 处吸光值变化 0.001 为一个酶活单位。

$$\text{MAO 活性 } (\Delta\text{OD}_{510}/\text{min/g 鲜重}) = \Delta A \div (W \times V1 \div V) \div 0.001 \div T = 416.7 \times \Delta A \div W$$

2.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 510nm 吸光值变化 0.001 为一酶活单位。

$$\text{MAO } (\Delta\text{OD}_{510}/\text{min/mg prot}) = \Delta A \div (V1 \times \text{Cpr}) \div 0.001 \div T = 416.7 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

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 510nm 处吸光值变化 0.001 为一个酶活单位。

$$\text{MAO 活性 } (\Delta\text{OD}_{510}/\text{min/mL}) = \Delta A \div V1 \div 0.001 \div T = 416.7 \times \Delta A$$

4、按细菌或细胞数量计算：

酶活定义：每克组织每分钟在反应体系中使 510nm 处吸光值变化 0.001 为一个酶活单位。

$$\text{MAO 活性 } (\Delta\text{OD}_{510}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) = \Delta A \div (500 \times V1 \div V) \div 0.001 \div T = 416.7 \times \Delta A \div 500$$

V---加入提取液体积, 1mL;

V1---反应中样本体积, 0.04mL;

W---样本质量, g;

T---反应时间, 60min;

500---细菌或细胞总数, 万

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