

单胺氧化酶(MAO)测定试剂盒说明书(精简版)

(货号:A034-1-1 紫外比色法 50 管/48 样)

免责声明: 测试前请仔细阅读说明书,预试后再进行批量实验,

否则由此导致的后果用户自行承担!

一、测定意义:

单胺氧化酶(Monoamine oxidase, MAO)在体内分布很广,以肝、肾、脑组织中含量最多。组织中 MAO 主要存在于线粒体上,和膜紧密结合;少量存在于细胞质可溶成份中,血清中 MAO 是水溶性,与线粒体上的 MAO 不同,而和结缔组织中的 MAO 相似。MAO 能促进结缔组织的成熟,在胶原形成过程中,MAO 参与胶原成熟最后阶段的架桥形成,使胶原和弹性硬蛋白结合。

二、测定原理:

以苯胺为底物,在 MAO 作用下,生成苯醛,以环己烷提取,在 242nm 测定吸光度,可测算出酶的活力。

三、所需仪器耗材及试剂:

含 242nm 波长的紫外分光光度计及 1cm 光径石英比色皿、37℃ 水浴锅或恒温箱、台式低速离心机、各种规格移液器、双蒸水、生理盐水(0.9%)或 PBS(0.1M)、涡旋混匀器、试管或离心管、蛋白测定试剂(组织及细胞样本用,本公司有售)。

四、试剂的组成与配制:

试剂一: 液体 20mL×1 瓶,2~8℃ 避光保存 3 个月。

试剂二: 液体 100mL×2 瓶,2~8℃ 保存 6 个月。

试剂三: 液体 20mL×1 瓶,2~8℃ 保存(对皮肤有刺激)3 个月。

试剂四: 液体 100mL×2 瓶,2~8℃ 避光保存 3 个月。

五、操作过程:

1、样本前处理:

①、**血清(浆):** 可直接进行测定。

②、**组织:** 准确称取组织重量,按重量(g):体积(mL)=1:9 的比例,加入 9 倍体积的生理盐水,冰水浴条件下机械匀浆,制成 10%的匀浆,2500 转/分,离心 10 分钟,取上清待测。(取部分上清液测总蛋白浓度,总蛋白定量试剂盒本所有售)

2、操作表:

	空白管	测定管
双蒸水 (mL)	a*	
待测样本 (mL)		a*
试剂一 (mL)	0.3	0.3
试剂二 (mL)	3	3
混匀, 37℃ 反应 3 小时		
试剂三 (mL)	0.3	0.3
试剂四 (mL)	3	3
混匀,连续抽提 2 分钟,3500 转/分,离心 10 分钟,取上清,紫外分光光度计,石英比色皿,242nm 处,1cm 光径比色,空白管调零*,测吸光度值。		

a*代表取样量。参考取样量: 10%脑组织匀浆取 500μL 为佳,血清取 200~300μL。

* 比色皿在用双蒸水冲洗干净后,还必须用无水乙醇冲洗,晾干后,备用。

[注]: 连续抽提是指在漩涡混匀器上持续混匀,不间断;操作过程最好使用玻璃试管操作,有些耐有机试剂

腐蚀的离心管也可以;由于上清液为有机试剂易挥发,离心过后,需尽快完成比色。

六、酶活力的定义及计算公式:

1、组织中 MAO 活力计算:

①、**定义:** 每毫克组织蛋白在 37℃,1 小时内产生 0.01 个光密度为一个活力单位 (U)。

②、计算公式:

$$\text{MAO 活力 (U/mgprot)} = \frac{A_{\text{测定}}}{0.01} \div T \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr})$$

T:反应时间,3 小时;

V_样:样本取样量,mL;

Cpr:组织匀浆蛋白浓度,mgprot/mL(prot 指蛋白)。

2、血清(浆)中 MAO 活力计算:

①、**定义:** 每 1mL 血清(浆)在 37℃,1 小时内产生 0.01 个光密度为一个活力单位 (U)。

②、计算公式:

$$\text{MAO 活力 (U/mL)} = \frac{A_{\text{测定}}}{0.01} \div T \div V_{\text{样}}$$

T:反应时间,3 小时;

V_样:样本取样量,mL;

七、注意事项:

1、加完试剂四后,因试剂量较多,抽提时最好用冰箱保鲜膜封口后,用拇指按住试管口置于漩涡混匀器上进行抽提。离心转速要在 3500 转/分以上,这样上清分层较好。

2、本试剂盒仅用于科研。