单胺氧化酶(MAO)检测试剂盒(醛苯腙微板法)

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(醛苯腙微板法)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腙呈棕红色，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:

编号 / 名称	GCTE0251 100T	Storage
试剂(A): 苄醛标准(5mmol/L)	1ml	4℃ 避光
试剂(B): MAO Assay buffer	30ml	RT
试剂(C): 苄胺缓冲液	1ml	4℃ 避光
试剂(D): 苄醛显色液	5ml	4℃ 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℃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℃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 MAO 1h 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。

标准曲线制作中各管 MAO 活性单位(U/ml 或 nmol/h·ml)

=苄醛 nmol 数/(2×0.016)

=苄醛 nmol 数×31.25

血清 MAO 活力(U/ml 或 nmol/h·ml)

=苄醛 nmol 数×N/(t×V_s)

=苄醛 nmol 数×31.25×N

=标曲中查出的样品 MAO 活性×N

组织 MAO 活力(U/mg 或 nmol/h·mg)

=苄醛 nmol 数×V_T×N/(t×V_s×m)

=苄醛 nmol 数×31.25×V_T×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苄醛 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、 加入苄醛显色缓冲液后，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。

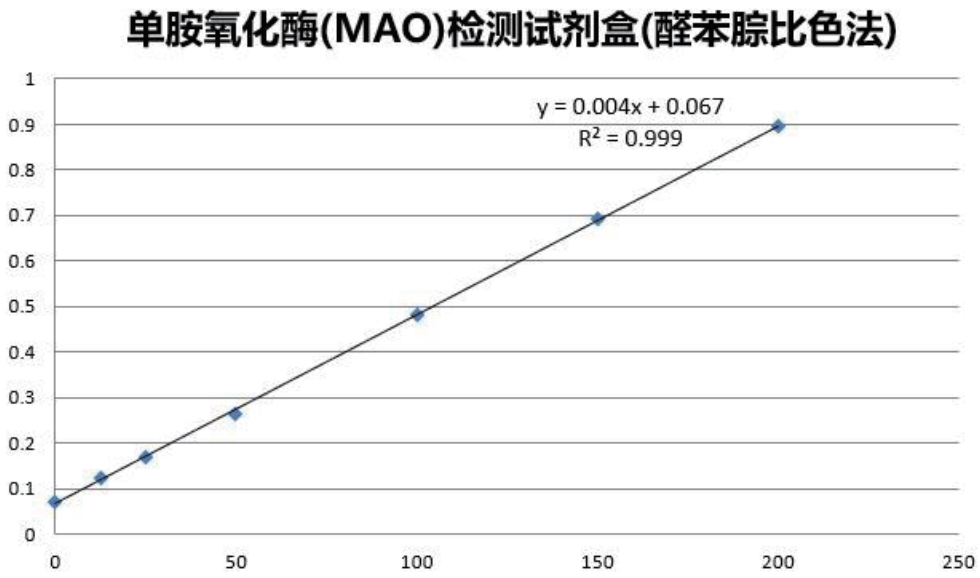
6、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：6 个月有效。低温运输，按要求保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCDH0006	苏木素伊红(HE)染色液(醇溶)
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCNR0003	Lezol(总 RNA 提取试剂)
GCPE0018	SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒
GCTC0713	葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 比色法)
GCTE0231	腺苷脱氨酶(ADA)检测试剂盒(波氏微板法)
GCTE0700	谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)检测试剂盒(微板法)
GCTO1001	总抗氧化能力(T-AOC)检测试剂盒(ABTS 微板法)

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：



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，对于要求精确计算苄醛含量的，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。