

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K008-M

产品规格: 96T(96 samples)

检测仪器: 酶标仪(345-360 nm)

Elabscience®单胺氧化酶(MAO)比色法测试盒

Monoamine Oxidase (MAO) Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于动物组织样本中单胺氧化酶(MAO)活力检测。

检测原理

4-二甲氨基苄胺经 MAO 催化生成对二甲氨基苯甲醛。对二甲氨基苯甲醛在紫外可见区具有特征吸收峰，其最大吸收波长为 355 nm。通过分析对二甲氨基苯甲醛的生成量可以间接分析 MAO 的活力，即得到 MAO 的比活力。

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 A (Extraction Solution A)	30 mL×1 瓶	60 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 12 个月
试剂二 (Reagent 2)	提取液 B (Extraction Solution B)	60 mL×1 瓶	60 mL×2 瓶	2-8℃ 保存 12 个月
试剂三 (Reagent 3)	缓冲液 (Buffer Solution)	60 mL×1 瓶	60 mL×2 瓶	2-8℃ 保存 12 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 (Chromogenic Agent)	3 mL×1 瓶	5 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 12 个月
	96 孔紫外酶标板	1 板		
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(检测波长范围 345-360 nm，最佳检测波长 355 nm)

试剂准备

① 试剂一工作液的配制：

按试剂一：双蒸水=1：1的体积比混匀，可2-8℃保存1个月。

② 试剂三工作液的配制：

按试剂三：双蒸水=1：1的体积比混匀，可2-8℃保存1个月。

样本准备

① 样本处理

动物组织样本：取 0.1-0.5 g 样本按照重量 (g) : 体积 (mL) = 1: 9 的比例加入试剂一工作液进行匀浆, 60 Hz 匀浆 90 s。4℃ 下 1000 ×g 离心 10 min, 取上清液。上清液于 4℃ 下 10000 ×g 离心 30 min, 弃上清。加入 1 mL 试剂二, 混匀, 4℃ 下 16000 ×g 离心 40 min, 弃上清。加入 1 mL 试剂三工作液, 混匀, 冰盒保存待用。

② 样本的稀释

在正式检测前, 需选择 2-3 个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 16-641 U/L, 请参考下表稀释(仅供参考):

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%小鼠肝组织	不稀释	10%小鼠肾组织	不稀释
10%大鼠肝组织	不稀释	10%大鼠脑组织	不稀释
10%大鼠肺组织	不稀释		

注: 稀释液为试剂三工作液。

实验关键点

- ① 在处理样本时, 试剂一工作液、试剂二、试剂三工作液需要提前进行预冷处理, 可提前 30 min 放置于冰盒。
- ② 组织样本处理时, 应严格按样本处理步骤操作, 处理上清液与沉淀物时应小心吸取。
- ③ 在进行检测时, 试剂三工作液、试剂四在加入体系前 37℃ 孵育 30 min。
- ④ 待测样本加入酶标板时, 触底加入。
- ⑤ 使用紫外酶标板检测。
- ⑥ 组织样本需测定蛋白, 选择加入试剂一工作液匀浆后的上清进行测定。

操作步骤

- ① 测定孔：向酶标板中相应的测定孔加入 25 μL 待测样本。
- ② 向步骤①中的测定孔加入 150 μL 试剂三工作液。
- ③ 向步骤②中测定孔加入 25 μL 试剂四，酶标仪上振板 5 s。
- ④ 酶标仪于 355 nm 处，检测测定孔吸光度，记为 A_1 ，37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 30 min 后，再次检测测定管吸光度，记为 A_2 。

注：移液枪移取液体时，小心吸打，避免产生气泡。

操作表

	测定孔
待测样本(μL)	25
试剂三工作液(μL)	150
试剂四(μL)	25
酶标仪上振板 5 s，酶标仪于 355 nm 处检测，检测测定孔吸光度 A_1 ，37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 30 min 后，再次检测测定孔吸光度 A_2 。	

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

结果计算

动物组织样本中单胺氧化酶活力计算公式：

定义：37℃条件下，每克组织蛋白每分钟催化底物产生1 nmol对二甲氨基苯甲醛的所需要的酶量为一个活力单位。

$$\text{单胺氧化酶活力 (U/gprot)} = \frac{(A_2 - A_1)}{\varepsilon \times d} \times V_1 \div (V_2 \times C_{pr}) \div T \times f$$

注解：

A₁：待测样本初始吸光度

A₂：孵育30 min后，待测样本吸光度

ε：对二甲氨基苯甲醛的摩尔消光系数：2.77×10⁻⁴ L/nmol·cm

d：比色光径0.6 cm

V₁：检测反应总体积200 μL

V₂：样本加入体积25 μL

C_{pr}：待测样本加入检测体系时的蛋白浓度(gprot/L)

T：检测体系孵育时间30 min

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	16-641 U/L	平均批间差	6.0 %
灵敏度	16 U/L	平均批内差	3.3 %
平均回收率	105 %		

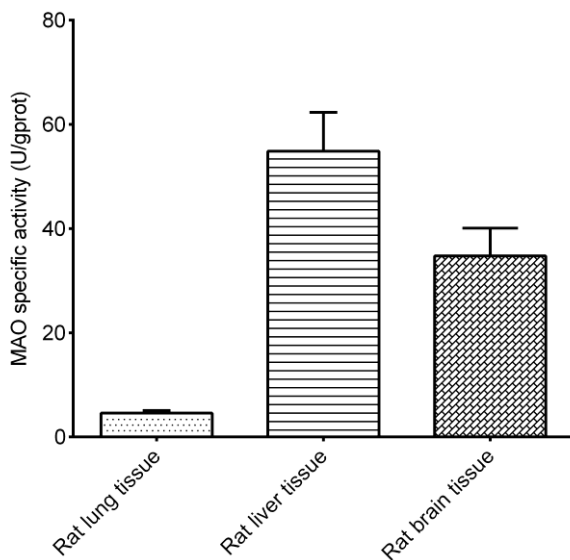
附录2 实例分析

例如检测大鼠肝组织(数据仅供参考):

取25 μL 10%大鼠肝组织匀浆样本按说明书进行测定,结果如下:初始吸光度 A_1 : 0.684, 孵育30 min后待测样本吸光度 A_2 : 1.016, 10%匀浆蛋白浓度为11.27 gprot/L, 待测样本含量计算结果为:

$$\begin{aligned} \text{单胺氧化酶活力} &= (1.016 - 0.684) \div (2.77 \times 10^{-4}) \div 0.6 \times 200 \div (11.27 \times 25) \div 30 \\ & \quad (\text{U/gprot}) \\ &= 47.26 \text{ U/gprot} \end{aligned}$$

按照说明书操作,测定大鼠肺组织匀浆(10%匀浆蛋白浓度为6.14 gprot/L, 加样量25 μL)、大鼠肝组织匀浆(10%匀浆蛋白浓度为11.27 gprot/L, 加样量25 μL)、大鼠脑组织匀浆(10%匀浆蛋白浓度为4.33 gprot/L, 加样量25 μL)中单胺氧化酶活力(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
同样本差异较大	样本检测时间未做到统一	保证样本孵育时间统一
样本测不出值	样本处理过程有错误, 导致样本损失	按说明书操作步骤处理样本
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本, 重新检测

声明

1. 试剂盒仅供研究使用, 如将其用于临床诊断或任何其他用途, 我公司将不对因此产生的问题负责, 亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器, 严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低, 请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责, 不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责, 使用前请充分考虑样本可能的使用量, 预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Zhang X, He C, Chen Y, et al. Cyclic reactions-mediated self-supply of H₂O₂ and O₂ for cooperative chemodynamic/starvation cancer therapy[J]. *Biomaterials*, 2021, 275:120987-. IF:12.479
2. Xia H, Scholtes C, Dufour CR, et al. Insulin action and resistance are dependent on a GSK3 β -FBXW7-ERR α transcriptional axis. *Nat Commun*. 2022; 13 (1):2105. IF:14.919
3. Liu Q, Zhang T X, Zheng Y D, et al. Calixarene-Embedded Nanoparticles for Interference-Free Gene-Drug Combination Cancer Therapy[J]. *Small*, 2021, 2006223. IF:11.459
4. He C, Zhang X, Chen C, et al. A solid lipid coated calcium peroxide nanocarrier enables combined cancer chemo/chemodynamic therapy with O₂/H₂O₂ self-sufficiency[J]. *Acta Biomaterialia*, 2021, 122. IF:8.203
5. Chen L, Tao F, Zhang Y, et al. Islet-cell autoantigen 69 accelerates liver regeneration by downregulating Tgf β 1 and attenuating Tgf β signaling in mice[J]. *FEBS Letters*, 2020, 594(17). IF:6.665
6. Omar N, Frank J, Kruger J, et al. Effects of High Intakes of Fructose and Galactose, with or Without Added Fructooligosaccharides, on Metabolic Factors, Inflammation, and Gut Integrity in a Rat Model[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2021:2001133. IF:5.914
7. Wang C, Ma C, Fu K, et al. Phillygenin Attenuates Carbon Tetrachloride-Induced Liver Fibrosis via Modulating Inflammation and Gut Microbiota[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 9, 21. IF:5.81
8. Du Y Q, Zheng Y Z, Yu C X M, et al. The Mechanisms of Yu Ping Feng San in Tracking the Cisplatin-Resistance by Regulating ATP-Binding Cassette Transporter and Glutathione S-Transferase in Lung Cancer Cells[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021; 12: 678126. IF:5.81
9. Zeng X Peng, Wang L J, Guo L H, et al. Dasatinib ameliorates chronic pancreatitis induced by caerulein via anti- fibrotic and anti-inflammatory mechanism[J]. *Pharmacological Research*, 2019, 147, 104357. IF:5.574
10. Cao X, Liang Y, Liu R, et al. Uncovering the Pharmacological Mechanisms of Gexia-Zhuyu Formula (GXZY) in Treating Liver Cirrhosis by an Integrative Pharmacology Strategy. *Front Pharmacol*. 2022; 13:793888. IF:5.331

11. Wang Y, Xie W, Feng Y, et al. Epithelial-derived exosomes promote M2 macrophage polarization via Notch2/SOCS1 during mechanical ventilation. *Int J Mol Med.* 2022; 50 (1). IF:5.314
12. Jung D S, Son Y J, Shin J M, et al. Gymnaster Koraiensis Extract Alleviated Metabolic Syndrome Symptoms and Stimulated UCP1 -Independent Energy Consumption via AMPK Activation in White Adipose Tissue[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2020. IF:5.309
13. Ali A K, Komal A K, Almutairi S M, et al. Natural killer cell-derived IL-10 prevents liver damage during sustained murine cytomegalovirus infection[J]. *Frontiers in immunology*, 2019, 10: 2688. IF:5.085
14. Xu Y , Zhang Y , Xu Y , et al. Activation of CD137 signaling promotes macrophage apoptosis dependent on p38 MAPK pathway-mediated mitochondrial fission[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2021 Jul;136:106003. IF:5.085
15. Naseh A, Shirin B, Maryam M, et al. Attenuation of chronic arsenic neurotoxicity via melatonin in male offspring of maternal rats exposed to arsenic during conception: Involvement of oxidative DNA damage and inflammatory signaling cascades[J]. *Life Sciences* 266 (2021) 118876. IF:5.037
16. Ahmed A E, Alshehri A, Al-Kahtani M A, et al. Vitamin E and selenium administration synergistically mitigates ivermectin and doramectin-induced testicular dysfunction in male Wistar albino rats[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020, 124: 109841. IF:4.545
17. Su S, Tian H, Jia X, et al. Mechanistic insights into the effects of SREBP1c on hepatic stellate cell and liver fibrosis[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020. IF:4.486
18. Wang L J, He L, Hao L, et al. Isoliquiritigenin ameliorates caerulein-induced chronic pancreatitis by inhibiting the activation of PSCs and pancreatic infiltration of macrophages[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020. IF:4.486
19. Dejan Lazić, Andreas Scheurer, Dušan Čočić, et al. New bis-pyrazolopyridine ruthenium(III) complex as a potential anticancer drug: In vitro and in vivo activity in murine colon cancer[J]. *Dalton Transactions*, 2021 Jun; 50(22):7686-7704. IF:4.39
20. Li X, Lv Z, Chen J, et al. *Bacillus amyloliquefaciens* B10 can alleviate liver apoptosis and oxidative stress induced by aflatoxin B1[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2021, 151:112124. IF:4.06
21. Amany Abdel-Rahman Mohamed , Safaa I. Khater , Ahmed Hamed Arisha , et al.

- Chitosan-stabilized selenium nanoparticles alleviate cardio-hepatic damage in type 2 diabetes mellitus model via regulation of caspase, Bax/Bcl-2, and Fas/FasL-pathway[J]. *Gene*, 2020, 768(7):145288. IF:3.688
22. Zhang S, Jiang L, Hu H, et al. Pretreatment of exosomes derived from hUCMSCs with TNF- α ameliorates acute liver failure by inhibiting the activation of NLRP3 in macrophage[J]. *Life Sciences*, 2020, 246: 117401. IF:3.647
 23. Yu H, Zhang L, Chen P, et al. Dietary bile acids enhance growth, and alleviate hepatic fibrosis induced by a high starch diet via AKT/FOXO1 and cAMP/AMPK/SREBP1 pathway in *Micropterus salmoides*[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10. IF:3.367
 24. Sohini Sen, Shaunak Ghosh, Sayantan De, et al. Immunomodulatory and antimicrobial non-mulberry *Antheraea mylitta* silk fibroin accelerates in vitro fibroblast repair and regeneration by protecting oxidative stress[J]. *RSC Advances*, 2021 May; 11(31):19265-19282. IF:3.361
 25. Li Jianda, Yuan Chen, Liu Peng et al. Red blood cells serve as a vehicle for PEDV transmission.[J]. *Vet Microbiol*, 2021, 257: 109081. IF:3.293
 26. Chen L, Tao F, Zhang Y, et al. Islet-cell autoantigen 69 accelerates liver regeneration by downregulating Tgfb1 and attenuating Tgf β signaling in mice[J]. *FEBS Letters*, 2020. IF:3.057
 27. Cui Y, Wang Y, Liu G. Protective Effect of Barbaloin in a Rat Model of Myocardial Ischemia Reperfusion Injury Through the Regulation of the CNPY2?PERK Pathway[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2019. IF:2.928
 28. Sun Yan-Chun, Han Shi-Cheng, Yao Ming-Zhu, et al. High-throughput metabolomics method based on liquid chromatography-mass spectrometry: Insights into the underlying mechanisms of salinity-alkalinity exposure-induced metabolites changes in *Barbus capito*[J]. *Journal of Separation Science*, 2021 Jan; 44(2):497-512. IF:2.878
 29. Mustafa H N, Hegazy G A, El Awdan S A, et al. Liver ischemia/reperfusion injury, a setting in which the functional mass is reduced and the role of PDE5 inhibitor[J]. *Eur. J. Anat*, 2019, 23(5): 325-332. IF:2.638
 30. Chen L, Ma K, Fan H, et al. Exogenous hydrogen sulfide protects against hepatic ischemia/reperfusion injury by inhibiting endoplasmic reticulum stress and cell apoptosis.[J]. *Spandidos Publications*, 2021(2). IF:2.447