

二胺氧化酶（DAO）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号: BA1090

产品规格: 100管/48样

产品简介:

DAO(EC1.4.3.6)广泛存在于动物（肠粘膜、肺、肝脏、肾脏等）、植物和微生物中。催化多胺氧化为醛，其活性与核酸和蛋白合成密切相关，能够反映肠道机械屏障的完整性和受损伤程度。

DAO催化尸胺产生醛和过氧化氢，外源添加过量的辣根过氧化物酶，催化过氧化氢氧化邻联茴香胺生成有色物质，在500nm处有特征吸收峰，通过测定该波长吸光度增加速率，计算DAO活性。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容:

| 试剂名称 | 规格 | 保存条件 |
|------|-------------|------|
| 提取液 | 液体70mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂一 | 液体0.25mL×1支 | 2-8℃ |
| 试剂二 | 粉剂×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂三 | 液体2mL×1瓶 | 2-8℃ |

溶液的配制:

1. 试剂二：液体置于试剂瓶内玻璃瓶中。临用前加入4mL蒸馏水溶解，4℃可保存1个月。

需自备的仪器和用品:

天平、低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、96孔板/微量玻璃比色皿、研钵/匀浆器、蒸馏水、无水乙醇、水浴锅。

操作步骤:

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）：

1. 组织：按照组织质量(g)：提取液体积(mL)为1: 5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液）进行冰浴匀浆，然后10000g, 4℃离心20min, 取上清，置冰上待测。
2. 细菌、真菌：按照细胞数量(10⁴个)：提取液体积(mL)为500~1000: 1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率300w, 超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；然后10000g, 4℃，离心10min, 取上清置于冰上待测。
3. 血清等液体：直接测定。

二、测定操作表:

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至500nm，蒸馏水调零。
2. 操作表

| 试剂名称 (μL) | 对照管 | 测定管 |
|---------------------------------------|-----|-----|
| 样本 | 50 | 50 |
| 提取液 | 108 | 108 |
| 试剂一 | 2 | 2 |
| 试剂二 | 20 | 20 |
| 试剂三 | - | 10 |
| 无水乙醇 | 10 | - |
| 混匀，37℃水浴30min，测定500nm吸光值。Δ A=A测定-A对照。 | | |

三、酶活性计算公式:

- a. 使用96孔板测定的计算公式如下



郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

扫一扫 加微信

1、动物组织DAO活力的计算

(1) 按蛋白浓度计算

单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO (U/mg prot)} = \Delta A \div d \div \epsilon \times V_{\text{反总}} \div (cpr \times V_{\text{样本}}) \div T = 30 \times \Delta A \div cpr$$

(2) 按样本鲜重计算

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟催化产生1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO (U/g 鲜重)} = \Delta A \div d \div \epsilon \times V_{\text{反总}} \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 30 \times \Delta A \div W$$

2、血清（浆）DAO活力的计算

单位的定义：每mL血清（浆）在反应体系中每分钟催化产生1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO (U/L)} = \Delta A \div d \div \epsilon \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样本}} \div T = 30 \times \Delta A$$

3、按细胞数量计算：

单位的定义：每 10^4 个细胞在反应体系中每分钟催化产生1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO活性 (U/10}^4\text{cell}) = \Delta A \div d \div \epsilon \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div T = 0.06 \times \Delta A$$

V_{反总}: 反应总体积, 0.2 mL; V_{样本}: 加入粗酶液体积, 0.05mL; V_{提取}, 加入提取液体积, 1mL; cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本鲜重, g; d: 光径, 0.6cm; ϵ : 氧化型邻联茴香胺消光系数, 7.5×10^{-3} mL/ $\mu\text{mol}/\text{cm}$; T: 反应时间, 30min; 500: 细胞数量, 500万。

b. 使用比色皿测定的计算公式如下

1、动物组织DAO活力的计算

(1) 按蛋白浓度计算

单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO (U/mg prot)} = \Delta A \div d \div \epsilon \times V_{\text{反总}} \div (cpr \times V_{\text{样本}}) \div T = 18 \times \Delta A \div cpr$$

(2) 按样本鲜重计算

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟催化产生1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO (U/g 鲜重)} = \Delta A \div d \div \epsilon \times V_{\text{反总}} \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 18 \times \Delta A \div W$$

2、血清（浆）DAO活力的计算

单位的定义：每mL血清（浆）在反应体系中每分钟催化产生1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO (U/mL)} = \Delta A \div d \div \epsilon \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样本}} \div T = 18 \times \Delta A$$

3、按细胞数量计算：

单位的定义：每 10^4 个细胞在反应体系中每分钟催化产生1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO活性 (U/10}^4\text{cell}) = \Delta A \div d \div \epsilon \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div T = 0.036 \times \Delta A$$

V_{反总}: 反应总体积, 0.2 mL; V_{样本}: 加入粗酶液体积, 0.05mL; V_{提取}, 加入提取液体积, 1mL; cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本鲜重, g; d: 微量玻璃比色皿光径, 1cm; ϵ : 氧化型邻联茴香胺消光系数, 7.5×10^{-3} mL/ $\mu\text{mol}/\text{cm}$; T: 反应时间, 30min; 500: 细胞数量, 500万。

注意事项:

- 如果 ΔA 小于0.01, 适当加大提取用样本质量; OD值大于0.8, 样本可用提取液适当稀释, 或者减少提取用样本质量。
- 样本蛋白质含量需要另外测定。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com