

二胺氧化酶(DAO)活性检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1089

产品规格：50管/24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60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体0.6mL×1支	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂三	液体1.5mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

试剂二：液体置于试剂瓶内玻璃瓶中。临用前加入6mL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、1mL玻璃比色皿、蒸馏水、无水乙醇、研钵/匀浆器、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）

- 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。
- 细菌、细胞：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。
- 血清等液体：直接测定。

二、测定操作表：

- 分光光度计预热30min以上，调节波长至500nm，蒸馏水调零。
- 操作表

试剂名称 (mL)	对照管	测定管
样本	0.25	0.25
提取液	0.59	0.59
试剂一	0.01	0.01
试剂二	0.1	0.1



扫一扫 加微信

上海尚宝生物技术有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>

试剂三	-	0.05
无水乙醇	0.05	-
混匀, 37°C水浴30min后于1mL玻璃比色皿中测定500nm下吸光度, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$		

三、酶活性计算公式:

1. 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1μmol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1μmol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1μmol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1μmol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, 1mL; V_{样本}: 加入样本的体积, 0.25mL; 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: 1mL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/μmol/cm; T: 反应时间, 30min; 500: 细胞总数, 500万。

注意事项:

- 如果ΔA小于0.01, 适当加大提取用样本质量; ΔA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。
- 样品蛋白质含量需要另外测定。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>