

血清(浆)二胺氧化酶(DAO)活性检测试剂盒（可见分光光度法）

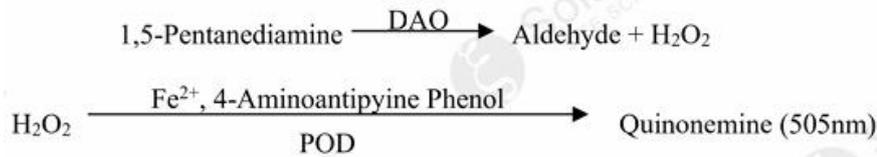
产品货号：BA3488

产品规格：50T/24S

产品简介：

DAO(Diamine oxidase, EC1.4.3.6)广泛存在于动物(肠黏膜、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质合成密切相关，能够反映肠道机械屏障的完整性和受损程度。

DAO催化尸胺产生醛和过氧化氢， H_2O_2 氧化亚铁氰化钾中的 Fe^{2+} 生成 Fe^{3+} ， Fe^{3+} 进一步与4-氨基安替比林和酚反应生成红色醌类化合物，在505nm处有特征吸收峰，通过测定505nm处的吸光值来计算DAO的活性。该试剂盒适用于血清(浆)样本。



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。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体6mL×1瓶	2-8°C
试剂二	液体40mL×1瓶	2-8°C
试剂三	液体8mL×1瓶	2-8°C
标准品	液体140μL×1支	2-8°C

溶液的配制：

1. 标准品：临用前取 102μL 加入 898μL 蒸馏水得到 1mol/L(即 1000μmol/mL)的过氧化氢溶液，2-8°C 保存 4 周。
2. 0.25μmol/mL 标准品的配制：取 10μL 1000μmol/mL 标准品和 990μL 蒸馏水混合配成 10μmol/mL 标准品；再取 25μL 10μmol/mL 标准品和 975μL 蒸馏水混合配成 0.25μmol/mL 标准品备用。

所需的设备和材料：

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液枪、1mL玻璃比色皿、冰和蒸馏水。

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)

血清(浆)等液体：直接检测，若溶液有浑浊则离心后取上清进行测定。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 505nm，蒸馏水调零。
2. 对照管加入样本后，放入沸水浴中灭活 5min(缠封口膜，防止爆盖)，流水冷却后使用。
3. 操作表：（在 1.5mL EP 管中依次加入下列试剂）



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

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	225	-	-	-
煮沸样本	-	225	-	-
标准品	-	-	225	-
试剂一	90	90	-	-
试剂二	600	600	600	600
试剂三	120	120	120	120
蒸馏水	-	-	90	315

涡旋混匀, 37°C 水浴或恒温培养箱中准确反应 1h。10000g, 4°C 离心 10min, 取上清液于 1mL 玻璃比色皿, 测定 505nm 处吸光值 A, 分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管。计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管}$, $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。每个测定管需设一个对照管, 标准管和空白管只需测 1-2 次。

三、DAO 活性计算

(1) 按样本蛋白浓度计算:

单位的定义: 每 mg 组织蛋白每小时分解尸胺产生 1μmol 的 H₂O₂ 定义为一个酶活性单位。

$$\text{DAO 活性(U/mg prot)} = \frac{C_{标准} \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times V_{样本}}{(C_{pr} \times V_{样本}) \div T \times F}$$

$$= 0.25 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div C_{pr} \times F$$

(2) 按液体体积计算:

单位的定义: 每 mL 液体每小时分解尸胺产生 1μmol 的 H₂O₂ 定义为一个酶活性单位。

$$\text{DAO 活性(U/mL)} = \frac{C_{标准} \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times V_{样本}}{V_{样本} \div T \times F}$$

$$= 0.25 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times F$$

C 标准: 标准品浓度, 0.25μmol/mL; V 样本: 加入反应体系中样本体积, 0.225mL; C_{pr}: 样本蛋白质浓度, mg/mL, 需自行测定; T: 反应时间, 1h; F: 稀释倍数。

注意事项:

保证 ΔA 测定在 0.01-0.8 之间, 若小于或者大于此区间, 可加大样本量或者蒸馏水稀释后进行测定, 注意同步修改计算公式。

实验实例:

- 取大鼠血浆置冰上待测, 之后按照测定步骤, 用 1mL 玻璃比色皿测得计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管} = 0.393 - 0.236 = 0.157$, $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管} = 0.455 - 0.043 = 0.412$; 按液体体积计算酶活得:
 $\text{DAO 活性(U/mL)} = 0.25 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times F = 0.095 \text{ U/mL}$ 。



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