

## 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）

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、细胞：按照细胞数量（ $10^4$ 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. 分光光度计预热30min以上，调节波长至500nm，蒸馏水调零。
2. 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
试剂三	-	0.05



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

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

### 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1 $\mu$ mol氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

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

##### (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 $\mu$ mol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 $\mu$ mol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<sup>4</sup>个细胞在反应体系中每分钟催化产生1 $\mu$ mol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； $\epsilon$ ：氧化型邻联茴香胺消光系数，7.5 $\times 10^{-3}$ mL/ $\mu$ mol/cm；T：反应时间，30min；500：细胞总数，500万。

### 注意事项：

1. 如果 $\Delta A$ 小于0.01，适当加大提取用样本质量； $\Delta A$ 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。
2. 样品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