

血清(浆)二胺氧化酶(DAO)活性检测试剂盒（微量法）

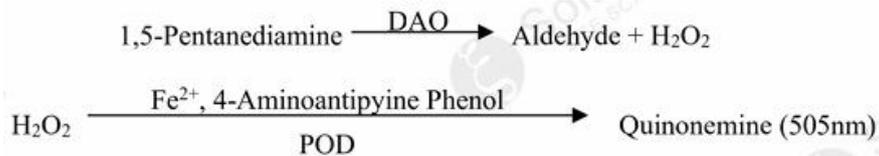
产品货号：BA3489

产品规格：100T/48S

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4mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂二 | 液体25mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂三 | 液体5mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 标准品 | 液体140μL×1支 | 2-8℃ |

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℃ 保存 4 周。
2. 0.5μmol/mL 标准品的配制：取 20μL 1000μmol/mL 标准品和 980μL 蒸馏水混合配成 20μmol/mL 标准品；再取 25μL 20μmol/mL 标准品和 975μL 蒸馏水混合配成 0.5μmol/mL 标准品备用。

所需的设备和材料：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液枪、微量玻璃比色皿/96孔板、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. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 505nm，分光光度计蒸馏水调零。
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）

| 试剂名称 (μL) | 测定管 | 对照管 | 标准管 | 空白管 |
|-----------|-----|-----|-----|-----|
| 样本 | 75 | - | - | - |
| 煮沸样本 | - | 75 | - | - |
| 标准品 | - | - | 75 | - |



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

| | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|
| 试剂一 | 30 | 30 | - | - |
| 试剂二 | 200 | 200 | 200 | 200 |
| 试剂三 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| 蒸馏水 | - | - | 30 | 105 |

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 200μL 上清液于微量玻璃比色皿/96 孔板，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。

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

$$= 0.5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div C_{pr} \times F$$

(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。

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

$$= 0.5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times F$$

C 标准：标准品浓度，0.5μmol/mL；V 样本：加入反应体系中样本体积，0.075mL；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 96 孔板测得计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管} = 0.166 - 0.105 = 0.061$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管} = 0.412 - 0.075 = 0.337$ ；按液体体积计算酶活得：
DAO 活性(U/mL) = $0.5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times F = 0.091 \text{U/mL}$ 。



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