

血清(浆)二胺氧化酶(DAO)活性检测试剂盒（可见分光光度法）

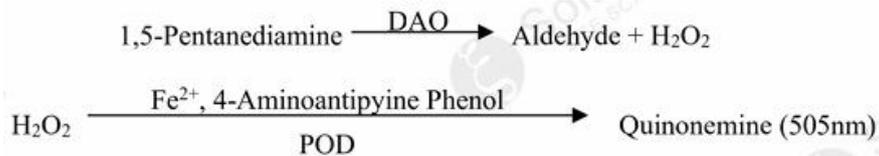
产品货号：BA3488

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℃
试剂二	液体40mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体8mL×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. 0.25μmol/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）

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	-	-



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 ΔA 测定=A 测定管-A 对照管， ΔA 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 1 μ mol 的 H₂O₂ 定义为一个酶活性单位。

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

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

(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 1 μ mol 的 H₂O₂ 定义为一个酶活性单位。

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

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

C 标准：标准品浓度，0.25 μ mol/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：

1. 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 ΔA 测定=A 测定管-A 对照管 =0.393-0.236=0.157， ΔA 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：
DAO 活性(U/mL)=0.25 \times ΔA 测定 \div ΔA 标准 \times F=0.095U/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