

二胺氧化酶 (DAO) 检测试剂盒

分光光度法 50 管/24 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

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。

测定原理：

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氧化型邻联茴香胺，在 460nm 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。

试剂组成和配制：

产品名称	OX023-50T/24S	Storage
提取液：液体	80ml	4°C
试剂一：液体	0.6ml	4°C
试剂二：液体	6ml	4°C
试剂三：液体	3ml	4°C
说明书	一份	

自备仪器和用品：

天平、低温离心机、可见分光光度计、1 ml 玻璃比色皿、蒸馏水。

粗酶液提取：

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°C离心 20min，取上清，置冰上待测。

2、细菌、真菌：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°C，离心 10min，取上清置于冰上待测。

3、血清等液体：直接测定。

测定步骤：

	对照管	测定管
粗酶液 (μl)	250	250

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



提取液 (μl)	640	540
试剂一 (μl)	10	10
试剂二 (μl)	100	100
试剂三 (μl)		100

混匀, 37°C水浴 30min, 1ml 玻璃比色皿, 对照管调零, 测定 A₄₆₀

酶活性计算公式:

(1) 按样本蛋白浓度计算:

酶活性定义: 在 pH7.2, 温度为 37°C条件下, 每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1nmol H₂O₂ 所需的酶量为一个酶活力单位 (U)。

$$\text{DAO 活性 (nmol/min/mg prot)} = \frac{A_{460}}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 18 \times A_{460} \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本质量计算:

酶活性定义: 在 pH7.2, 温度为 37°C条件下, 每克组织每分钟催化产生 1nmol H₂O₂ 所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO 活性 (nmol/min/g)} = \frac{A_{460}}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 18 \times A_{460} \div W$$

(3) 按细胞数量计算:

酶活性定义: 在 pH7.2, 温度为 37°C条件下, 每 10⁴ 个细胞每分钟催化产生 1nmol H₂O₂ 所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO 活性 (nmol/min/10⁴cell)} = \frac{A_{460}}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \div T = 18 \times A_{460} \div \text{细胞数量}$$

(4) 按液体体积计算

酶活性定义: 在 pH7.2, 温度为 37°C条件下, 每毫升血清每分钟催化产生 1nmol H₂O₂ 所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO 活性 (nmol/min/ml)} = \frac{A_{460}}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 18 \times A_{460}$$

ε: 氧化型邻联茴香胺毫摩尔消光系数: 7.5 L/mmol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; V_{反总}: 反应总体积, 1ml; V_样: 反应中样本体积, 0.25ml; V_{样总}: 加入提取液体积, 1ml; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/ml; T: 反应时间, 30min

注意事项:

1、如果 OD 值小于 0.01, 适当加大提取用的样本质量; OD 值大于 0.8, 粗酶液可适当稀释, 或者减少提取用样本量。

2、样品蛋白质含量需要另外测定。

