



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

二胺氧化酶 (DAO) 活性检测试剂盒(微量法)

货号: R41785

规格: 100T/48S

有效期: 6个月

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液ES10	70ml×1	2-8℃ 保存
R41785-A	0.25ml×1	2-8℃ 保存
R41785-B	粉剂×1	2-8℃ 保存; 临用前加入4ml蒸馏水溶解, 4℃ 保存一个月
R41785-C	1 ml×1	2-8℃ 保存

简介

意义: 二胺氧化酶 (Diamine Oxidase, 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。

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。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、天平、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、冰、无水乙醇和蒸馏水。

粗酶液提取:

1. 组织: 按照组织质量 (g) :



组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 ES10 (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. 细胞样品处理:

按照细胞数量 (10^4 个): 提取液体积 ES10 (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。

测定步骤:

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min, 调节波长至 500nm, 蒸馏水调零。
2. 样本测定, 在 EP 管中按照下表操作:

试剂名称	对照管(ul)	测定管(ul)
粗酶液	50	50
提取液ES10	108	108
R41785-A	2	2
R41785-B	20	20
R41785-C		10
无水乙醇	10	
混匀, 37℃ 水浴30min, 蒸馏水调零, 测定500nm吸光值。△A=A测定-A对照。		

酶活性计算公式:

a. 使用 96 孔板测定的计算公式如下

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 $1\mu\text{mol}$ 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO 活性 (U/mg prot)} = \Delta A \div d \div \epsilon \times V_{\text{反应}} \div (cpr \times V_{\text{样本}}) \div T = 30 \times \Delta A \div cpr$$



(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 μ mol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO 活性 (U/g 鲜重)} = \Delta A \div d \div \epsilon \times V_{\text{反总}} \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 30 \times \Delta A \div W$$

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 μ mol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO 活性 (U/mL)} = \Delta A \div d \div \epsilon \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样本}} \div T = 30 \times \Delta A$$

3. 按细胞数量计算:

单位的定义: 每 10⁴ 个细胞在反应体系中每分钟催化产生 1 μ mol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div d \div \epsilon \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \div T = 0.06 \times \Delta A$$

注: V 反总: 反应总体积, 0.2 mL; V 样本: 加入粗酶液体积, 0.05mL; 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: 光径, 0.6cm; ϵ : 氧化型邻联茴香胺消光系数, 7.5 $\times 10^{-3}$ mL/ μ mol/cm; T: 反应时间, 30min; 500: 细胞数量, 500 万。

b. 使用比色皿测定的计算公式如下

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 μ mol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

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

(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 μ mol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO 活性 (U/g 鲜重)} = \Delta A \div d \div \epsilon \times V_{\text{反总}} \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 18 \times \Delta A \div W$$

2. 血清（浆）DAO 活力的计算



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

单位的定义: 每 mL 血清 (浆) 在反应体系中每分钟催化产生 1 μ mol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

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

3. 按细胞数量计算:

单位的定义: 每 10⁴ 个细胞在反应体系中每分钟催化产生 1 μ mol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div d \div \epsilon \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div T = 0.036 \times \Delta A$$

注: V 反总: 反应总体积, 0.2 mL; V 样本: 加入粗酶液体积, 0.05mL; 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: 光径, 1cm; ϵ : 氧化型邻联茴香胺消光系数, 7.5 $\times 10^{-3}$ mL/ μ mol/cm; T: 反应时间, 30min; 500: 细胞数量, 500 万。

注意事项:

1. 如果 OD 值小于 0.01, 适当加大提取用样本质量; OD 值大于 0.8, 粗酶液可适当稀释, 或者减少提取用样品质量。
2. 样品蛋白质含量需要另外测定。

源叶