



## 二胺氧化酶(DAO)试剂盒-340nm (动物样本和血清)

### 可见分光光度法

货号: R43844-48S

#### 产品简介:

二胺氧化酶(DAO,EC1.4.3.6) 广泛存在于动物、植物和微生物中。催化二胺氧化为醛,其活性与核酸和蛋白合成密切相关。

该试剂盒通过 DAO 催化二胺产生醛和氨,生成的氨在谷氨酸脱氢酶的作用下与 $\alpha$ -酮戊二酸和还原型辅酶一 (NADH) 反应,使NADH 氧化成NAD<sup>+</sup>,通过检测NADH于340nm 处的下降量计算得出DAO 酶活性大小。

#### 试剂盒组成和配置:

| 试剂名称 | 规格        | 保存要求   | 备注                                            |
|------|-----------|--------|-----------------------------------------------|
| 提取液  | 液体60mL×1瓶 | 4℃保存   |                                               |
| 试剂一  | 粉体mg×1支   | 4℃保存   | 临用前甩几下使粉体落入底部, 再加入1.2mL蒸馏水溶解备用。               |
| 试剂二  | 粉体mg×3支   | 4℃保存   | 临用前甩几下使粉体落入底部, 每支加入0.4mL蒸馏水溶解备用, 可分装后于-20℃保存。 |
| 试剂三  | 粉体mg×1支   | -20℃保存 | 临用前甩几下使粉体落入底部, 再加入1.1mL蒸馏水溶解备用, 可分装后于-20℃保存。  |
| 试剂四  | 液体30mL×1瓶 | 4℃保存   |                                               |
| 试剂五  | 液体2mL×1支  | 4℃保存   |                                               |

#### 所需的仪器和用品:

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿(光径1cm)、 可调式移液器、天平、低温离心机、蒸馏水。

#### 二胺氧化酶 (DAO) 活性测定:



建议正式实验前选取2个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验 样本和试剂浪费!

## 1、样本制备:

### ①动物组织样本:

称取约0.1g 组织(水分充足的样本可取0.5g), 加入1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。  
4℃×12000rpm 离心10min, 取上清, 置冰上待测。

**【注】**:若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积(mL) 为1:5~10的比例进行提取。

### ②细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约500万细菌或细胞加入1mL

提取液, 超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率200W, 超声3s, 间隔10s, 重复30次); 12000rpm 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

**【注】**:若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量( $10^4$ ):提取液 (mL) 为500~1000:1的比例进行提取。

③血清等液体样本: 直接检测; 若浑浊, 离心后取上清检测。

## 2、上机检测:

①紫外分光光度计预热30min, 调节波长至340nm。所有试剂解冻至室温(25℃)。

②试剂一和二和三和四可按照20:20:20:580预混成混合液(依据反应次数用多少混多少, 现配现用), 加一次640μL即可, 在1mL 石英比色皿(光径1cm) 中依次加入:

| 试剂名称(μL)       | 测定管 |
|----------------|-----|
| 样本             | 60  |
| 试剂一            | 20  |
| 试剂二            | 20  |
| 试剂三            | 20  |
| 试剂四            | 580 |
| 混匀, 30℃下孵育5min |     |
| 试剂五            | 40  |



混匀, 30℃下, 立即于340nm处读取吸光值A1, 30min后读取A2,  $\Delta A = A1 - A2$ 。

【注】若 $\Delta A$  差值较小, 则需增加样本量V1 (如增至120 $\mu$ L, 则试剂四相应减少), 或延长反应时间T (如增加至1h 或更长再读取A2), 则改变后的加样体积V1和反应时间T 需加入计算公式重新计算。

### 结果计算:

#### 1、按样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每毫克组织蛋白在每分钟内氧化1nmol NADH定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{DAO活力}(\text{nmol/min/mg prot}) &= [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \\ &= 66.1 \times \Delta A \div \text{Cpr}\end{aligned}$$

#### 2、按样本鲜重计算:

单位定义: 每克组织在每分钟内氧化1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{DAO活力}(\text{nmol/min/g 鲜重}) &= [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V1 \div V) - T \\ &= 66.1 \times \Delta A \div W\end{aligned}$$

#### 3、按细胞数量计算:

单位定义: 每10<sup>4</sup>个细胞每分钟内氧化1 nmol NADH定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{DAO活力}(\text{nmol/min}/10^4\text{cell}) &= [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V1 \div V) \div T \\ &= 66.1 \times \Delta A \div 500\end{aligned}$$

#### 4、按液体体积计算:

单位定义: 每毫升液体每分钟内氧化1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{DAO活力}(\text{nmol/min/mL}) &= [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V1 \div T \\ &= 66.1 \times \Delta A\end{aligned}$$

V---加入提取液体积, 1mL;

V1--- 加入样本体积, 0.06mL;

d--- 光径, 1cm;



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 400-666-5481 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: 3008007435@qq.com

---

V2---反应体系总体积,  $7.4 \times 10^{-4}$  L;

E---NADH 摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^3$  L/mol/cm;

W---样本质量, g;

T---反应时间, 30min;

500---细胞数量, 万;

Cpr---蛋白浓度(mg/mL), 建议使用本公司的BCA 蛋白含量测定试剂盒。



源叶