

二胺氧化酶（DAO）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1048

保存：4℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：血清（浆）、植物组织、细胞、细胞上清、细菌、尿液

产品简介

二胺氧化酶 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。本试剂盒可检测生物体内 DAO 活性，其原理是 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有色物质，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。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	60mL	120mL	4℃保存
试剂一	0.2mL	0.4mL	4℃避光保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	-20℃避光保存
试剂三	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	4℃避光保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 460nm 处的吸光度）

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

恒温箱、低温离心机、制冰机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

试剂二：临用前配制；48T 加入 2mL 去离子水，96T 加入 4mL 去离子水；充分溶解。溶解后的试剂可 4℃保存一周，也可分装-20℃长期保存，避免反复冻融。

试剂三：临用前配制；48T 加入 1mL 去离子水，96T 加入 2mL 去离子水；充分溶解。溶解后的试剂可 4℃保存一周，也可分装-20℃长期保存，避免反复冻融。

工作液：临用前配制；每孔准备 150μL 工作液，现配现用，吸取 108μL 提取液，2μL 试剂一，20μL 试剂二，20μL 试剂三，混匀后待用。

样本制备

植物组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 提取液捣碎，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），10,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

产品说明书

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20% 或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 10,000g，4℃ 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

血清（浆）、细胞上清、尿液等液体样本：直接测定。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 460nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 恒温箱预热到 37℃。
3. 样本测定（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

	对照孔 (μL)	测定孔 (μL)
上清	50	50
提取液	150	0
工作液	0	150

混匀，37℃ 孵育 5min，测定 460nm 吸光值。对照孔记为 $A_{\text{对照}}$ ，测定孔记为 $A_{\text{测定}}$ ，计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$

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。如果 ΔA 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 ΔA 大于 0.8，样本可用提取液适当稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

A. 使用 96 孔板测定的计算公式

1. 植物组织 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 1nmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T \times n = 213 \times \Delta A \div \text{Cpr} \times n$$

(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 1nmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO (U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times n = 213 \times \Delta A \div W \times n$$

2. 液体样本 DAO 活力的计算：

单位的定义：每 mL 液体样本在反应体系中每分钟催化产生 1nmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO (U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T \times n = 213 \times \Delta A \times n$$

3. 按细胞或细菌数量计算：

单位的定义：每 10^4 个细胞或细菌在反应体系中每分钟催化产生 1nmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO (U/10}^4 \text{ cells)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times n = 0.427 \times \Delta A \times n$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：氧化型邻联茴香胺消光系数， 7.5×10^3 L/mol/cm； d ：96 孔板的光径，0.5cm； 10^9 ： $1\text{mol} = 1 \times 10^9 \text{nmol}$ ； Cpr ：样本蛋白浓度，mg/mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.05mL； T ：反应时间，5min； n ：稀释倍数； W ：样本鲜重，0.1g； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；500：细胞或细菌总数，500 万。

B. 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径 $d: 0.5\text{cm}$ 调整为 $d: 1\text{cm}$ 进行计算即可。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

产品说明书

相关产品：

- PMK1042 葡萄糖氧化酶 (GOD) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1036 超氧化物歧化酶 (SOD) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1038 过氧化物酶 (POD) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1041 黄嘌呤氧化酶 (XO) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1043 多酚氧化酶 (PPO) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

