

二胺氧化酶 (DAO) 活性检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1090

产品规格: 100管/48样

产品简介:

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。

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500nm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。

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体70mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体0.25mL×1支	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂三	液体2mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制:

1. 试剂二: 液体置于试剂瓶内玻璃瓶中。临用前加入4mL蒸馏水溶解,4℃可保存1个月。

需自备的仪器和用品:

天平、低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、96孔板/微量玻璃比色皿、研钵/匀浆器、蒸馏水、无水乙醇、水浴锅。

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):

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℃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℃,离心10min,取上清置于冰上待测。
3. 血清等液体: 直接测定。

二、测定操作表:

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上,调节波长至500nm,蒸馏水调零。
2. 操作表

试剂名称(μL)	对照管	测定管
样本	50	50
提取液	108	108
试剂一	2	2
试剂二	20	20
试剂三	-	10
无水乙醇	10	-

混匀,37℃水浴30min,测定500nm吸光值。 $\Delta A=A_{测定}-A_{对照}$ 。

三、酶活性计算公式:



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

a. 使用96孔板测定的计算公式如下

1、动物组织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1 μ mol氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

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

(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。

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

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。

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

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。

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

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， 7.5×10^{-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、动物组织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1 μ mol氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

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

(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。

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

2、血清（浆）DAO活力的计算

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。

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

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。

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

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：微量玻璃比色皿光径，1cm； ε ：氧化型邻联茴香胺消光系数， 7.5×10^{-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 ΔA 小于0.01，适当加大提取用样本质量；OD值大于0.8，样本可用提取液适当稀释，或者减少提取用样本质量。
2. 样本蛋白质含量需要另外测定。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>