

二胺氧化酶(DAO)试剂盒--340nm (动物样本和血清) (微板法)

产品货号: BA2635

产品规格: 96样

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 α -酮戊二酸和还原型辅酶一(NADH)反应,使NADH氧化成NAD⁺,通过检测NADH于340nm处的下降量计算得出DAO酶活性大小。

产品组成:

试剂名称	96样	保存条件	备注
提取液	液体100mL×1瓶	2-8°C	
试剂一	粉体mg×1支	2-8°C	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	2-8°C	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°C保存。
试剂三	粉体mg×1支	-20°C	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°C保存。
试剂四	液体13mL×1瓶	2-8°C	
试剂五	液体2mL×1支	2-8°C	

需自备的仪器和用品:

酶标仪、96孔板、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:

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°C×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°C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。



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

2. 上机检测:

- (1) 酶标仪预热 30min, 调节波长至 340nm。所有试剂解冻至室温 (25°C)。
- (2) 试剂一和二和三和四可按照 10:10:10:130 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 160μL 即可, 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	20
试剂一	10
试剂二	10
试剂三	10
试剂四	130
混匀, 30°C下孵育 5min	
试剂五	20
混匀, 30°C下, 立即于 340nm 处读取吸光值 A1, 30min 后读取 A2, $\Delta A = A1 - A2$ 。	

【注】: 若 ΔA 差值较小, 则需增加样本量 V1 (如增至 40μL, 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。

$$\text{DAO 活力}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T = 107.2 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

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。

$$\text{DAO 活力}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V1 \div V) \div T = 107.2 \times \Delta A \div W$$

3. 按细胞数量计算:

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

$$\text{DAO 活力}(\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{cell}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 107.2 \times \Delta A \div 500$$

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。

$$\text{DAO 活力}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V1 \div T = 107.2 \times \Delta A$$

V---加入提取液体积, 1mL; V1---加入样本体积, 0.02mL; d---光径, 0.5cm;

V2---反应体系总体积, 2×10^{-4} L; ϵ ---NADH 摩尔消光系数, 6.22×10^3 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。



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