

上海茁彩生物科技有限公司  
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0621

Size: 50T/24S

## 二胺氧化酶 (DAO) 检测试剂盒说明书

### 可见分光光度法

\*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 一、测定意义:

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。

#### 二、测定原理:

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。

#### 三、需自备的仪器和用品:

天平、低温离心机、可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、蒸馏水。

#### 四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 80mL × 1 瓶	4°C 保存	
试剂一	液体 0.5mL × 1 支	4°C 保存	
试剂二	液体 5mL × 1 瓶	4°C 保存	
试剂三	液体 5mL × 1 瓶	4°C 保存	

## 五、样本制备：

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°C 离心 20min, 取上清, 置冰上待测。
2. 细菌、真菌：按照细胞数量 (10<sup>4</sup>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°C, 离心 10min, 取上清置于冰上待测。
3. 血清等液体：直接测定。

## 六、测定操作表

	对照管	测定管
粗酶液 (μL)	250	250
提取液 (μL)	640	540
试剂一 (μL)	10	10
试剂二 (μL)	100	100
试剂三 (μL)		100
混匀, 37°C 水浴 30min, 1mL 玻璃比色皿, 对照管调零, 测定 A 460		

## 七、酶活性计算公式

(1) 按样本蛋白浓度计算：

酶活性定义：在 pH7.2, 温度为 37°C 条件下, 每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1nmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 所需的酶量为一个酶活力单位 (U) 。

$$\text{DAO 活性 (nmol/min/mg prot)} = A460 \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T$$

$$= 18 \times A460 \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本质量计算：

酶活性定义：在 pH7.2, 温度为 37°C 条件下, 每克组织每分钟催化产生 1nmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 所需的酶量定义为一个酶活力单位。

DAO 活性 (nmol/min/g) =  $A_{460} \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{总}} \times W) \div T = 18 \times A_{460} \div W$

(3) 按细胞数量计算:

酶活性定义: 在 pH7.2, 温度为 37°C 条件下, 每  $10^4$  个细胞每分钟催化产生 1nmol  $H_2O_2$  所需的酶量定义为一个酶活力单位。

DAO 活性 (nmol/min/ $10^4$ cell) =  $A_{460} \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \div T = 18 \times A_{460} \div \text{细胞数量}$

(4) 按液体体积计算

酶活性定义: 在 pH7.2, 温度为 37°C 条件下, 每毫升血清每分钟催化产生 1nmol  $H_2O_2$  所需的酶量定义为一个酶活力单位。

DAO 活性 (nmol/min/mL) =  $A_{460} \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 18 \times A_{460}$

$\epsilon$ : 氧化型邻联茴香胺毫摩尔消光系数: 7.5 L/mmol/cm; d: 比色皿光径, 1cm;  $V_{\text{反总}}$ : 反应总体积, 1mL;  $V_{\text{样}}$ : 反应中样本体积, 0.25mL;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; T: 反应时间, 30min

## 八、注意事项

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