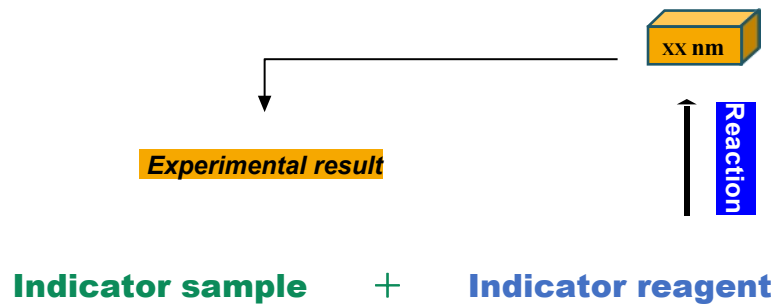


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## 二胺氧化酶 (Diamine Oxidase, DAO) 试剂盒说明书

### 可见分光光度法

**注意：正式测定之前选择 2-3个预期差异大的样本做预测定。**

#### 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。

#### 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。

#### 自备实验用品及仪器

天平、低温离心机、可见分光光度计、1mL玻璃比色皿、蒸馏水。

#### 试剂组成和配制

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℃保存	-
试剂一	液体 0.5mL×1 支	4℃保存	-
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂三	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	-

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。

#### 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℃水浴 30min，1mL 玻璃比色皿，对照管调零，测定 A 460		

## 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)。

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

### (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。

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

### (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<sup>4</sup> 个细胞每分钟催化产生 1nmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 所需的酶量定义为一个酶活力单位。

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

### (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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 所需的酶量定义为一个酶活力单位。

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

$\epsilon$ ：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<sub>反总</sub>：反应总体积，1mL；V<sub>样</sub>：反应中样本体积，0.25mL；V<sub>样总</sub>：加入提取液体积，1mL；C<sub>pr</sub>：样本蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间，30min

### 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。