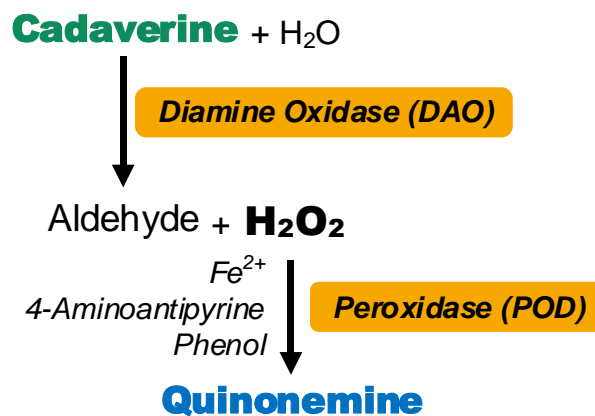




二胺氧化酶 (DAO) 活性检测试剂盒
Diamine Oxidase (DAO) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



二胺氧化酶 (DAO) 活性检测试剂盒

Diamine Oxidase (DAO) Activity Assay Kit

一、产品描述

二胺氧化酶 (DAO) 是存在于哺乳动物小肠的黏膜或纤毛上皮细胞中催化二胺的细胞内酶, 能够催化多胺氧化生成醛, 并可通过调节细胞内的离子平衡、影响传导通路、促进细胞修复等, 对肠黏膜起保护作用, 可作为反映肠道机械屏障的完整性和受损伤程度的重要指标。

二胺氧化酶能够催化尸胺生成醛和 H_2O_2 , 过氧化物酶 (POD) 进一步催化 H_2O_2 氧化亚铁氰化钾中的 Fe^{2+} 生成 Fe^{3+} , Fe^{3+} 进一步与 4-氨基安替比林和酚反应生成红色醌类化合物, 产物在 505 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化速率即可表征二胺氧化酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 30 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 3 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 40 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三	液体 10 mL×1 瓶	4°C 保存	-
标准液	液体 140 μ L×1 支	4°C 保存	使用前吸取 102 μ L 标准液加入 898 μ L 蒸馏水充分混匀 (即为 1000 μ mol/mL H_2O_2 标准液)
标准应用液的制备: 将 1000 μ mol/mL H_2O_2 标准液使用蒸馏水稀释至 0.25 μ mol/mL 即为标准应用液。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿 (光径 10 mm)、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

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 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 10000 g 离心 15 min, 取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞:离心收集细菌或细胞至离心管内,按照细菌或细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为(500-1000):1的比例(建议500万细菌或细胞加入1 mL提取液)处理样品,冰浴超声破碎(功率300 W,超声3 s,间隔7 s,总时间3 min), 4°C 10000 g离心15 min,取上清置于冰上待测。

③血清、培养液等液体样本:直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计预热30 min以上,调节波长至505 nm,蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂:

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
粗酶液	225	225	-	-
标准应用液	-	-	225	-
试剂一	90	-	-	-
试剂二	600	600	600	600
试剂三	120	120	120	120
蒸馏水	-	90	90	315

①充分混匀, 37°C 准确反应1 h;

② 4°C 10000 g离心10 min,取上清液;

吸光值测定:将上清液置于1 mL玻璃比色皿中,测定505 nm处吸光值,记为A测定、A对照、A标准和A空白,计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 、 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注:空白只需测定1-2次,每个样品均需设一个对照管。

3.二胺氧化酶(DAO)活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义:每mg组织蛋白每小时生成 $1 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO (U/mg prot)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{pr}} \times T} = \frac{0.25 \times \Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义:每g组织样本每小时生成 $1 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO (U/g)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{提}}}{\Delta A_{\text{标准}} \times W \times T} = \frac{0.25 \times \Delta A_{\text{测定}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 细菌或细胞每小时生成 $1 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\text{C 标} \times \Delta\text{A 测定} \times \text{V 提}}{\Delta\text{A 标准} \times \text{细菌或细胞数} \times \text{T}} = \frac{0.25 \times \Delta\text{A 测定}}{\text{细菌或细胞数} \times \Delta\text{A 标准}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每小时生成 $1 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{DAO (U/mL)} = \frac{\text{C 标} \times \Delta\text{A 测定}}{\Delta\text{A 标准} \times \text{T}} = \frac{0.25 \times \Delta\text{A 测定}}{\Delta\text{A 标准}}$$

注释： C 标：标准应用液浓度， $0.25 \mu\text{mol/mL}$ ；V 提：粗酶液总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细胞或细胞数量：以万计；T：反应时间，1 h。

四、注意事项

为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

