

二胺氧化酶（DAO）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC1280

规格：50T/24S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂一	液体 3 mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂二	液体 40 mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂三	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃ 保存
标准品	液体 140 μL×1 支	2-8℃ 保存

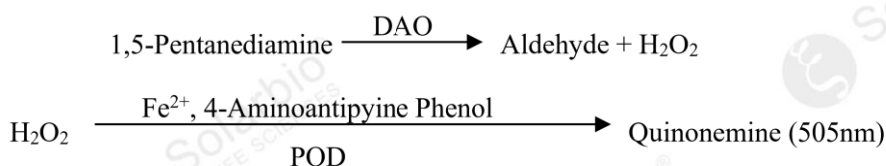
溶液的配制：

1. 标准品：临用前取 102 μL 加入 898 μL 蒸馏水得到 1 mol/L（即 1000 μmol/mL）的过氧化氢溶液，2-8℃ 保存 4 周。
2. 0.25 μmol/mL 标准品的配制：取 10 μL 1000 μmol/mL 标准品和 990 μL 蒸馏水混合配成 10 μmol/mL 标准品；再取 25 μL 10 μmol/mL 标准品和 975 μL 蒸馏水混合配成 0.25 μmol/mL 标准品备用。

产品说明：

DAO（EC1.4.3.6）广泛存在于动物（肠黏膜、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质合成密切相关，能够反映肠道机械屏障的完整性和受损程度。

DAO 催化尸胺产生醛和过氧化氢，H₂O₂ 氧化亚铁氰化钾中的 Fe²⁺ 生成 Fe³⁺，Fe³⁺ 进一步与 4-氨基安替比林和酚反应生成红色醌类化合物，在 505 nm 处有特征吸收峰，通过测定 505 nm 处的吸光值来计算 DAO 的活性。该试剂盒适用于测定动植物组织及微生物中的二胺氧化酶活性，测定血清（浆）推荐使用 BC5104/BC5145 血清（浆）二胺氧化酶活性检测试剂盒。



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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、1 mL 玻璃比色皿、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

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. 细胞或细菌：收集细胞或细菌到离心管内，离心后弃上清；按照细胞/细菌数量（10⁴）个：提取液体积（mL）为 500 ~ 1000：1 的比例（建议 500 万细胞/细菌加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞/细菌（功率 300W，





超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min)；10000g，4℃离心 20min，取上清置冰上待测。

2. 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；10000g，4℃离心 20min，取上清置冰上待测。
3. 血清（浆）等液体：直接检测，若溶液有浑浊则离心后取上清进行测定。

二、测定步骤

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 505nm，蒸馏水调零。

2、操作表：（在 1.5mL EP 管中依次加入下列试剂）

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	225	225	-	-
标准品	-	-	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

涡旋混匀，37℃水浴或恒温培养箱中准确反应 1h。10000g，4℃离心 10min，取上清液于 1mL 玻璃比色皿，测定 505nm 处吸光值 A，分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管需设一个对照管，标准管和空白管只需测 1-2 次。

三、DAO活性计算

(1) 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每小时每 mg 组织蛋白分解尸胺产生 1μmol 的 H₂O₂ 定义为一个酶活性单位。

$$\text{DAO 活性 (U/mg prot)} = C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样本}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) \div T \times F$$

$$= 0.25 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times F$$

(2) 按样本质量计算：

单位的定义：每小时每 g 组织分解尸胺产生 1μmol 的 H₂O₂ 定义为一个酶活性单位。

$$\text{DAO 活性 (U/g 质量)} = C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{提取}} \div W \div T \times F = 0.25 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F$$

(3) 按细胞/细菌数量计算：

单位的定义：每小时每 10⁴ 个细胞/细菌分解尸胺产生 1μmol 的 H₂O₂ 定义为一个酶活性单位。

$$\text{DAO 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{提取}} \div N \div T \times F = 0.25 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div N \times F$$

(4) 按液体体积计算：

单位的定义：每小时每 mL 液体分解尸胺产生 1μmol 的 H₂O₂ 定义为一个酶活性单位。

$$\text{DAO 活性 (U/mL)} = C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样本}} \div T \times F = 0.25 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F$$

C 标准：标准品浓度，0.25μmol/mL；V 提取：提取液体积，1mL；V 样本：加入反应体系中样本体积，0.225mL；C_{pr}：样本蛋白质浓度，mg/mL，需自行测定；W：样本质量，g；N：细胞数量，以 10⁴ 计；T：反应时间，1h；F：稀释倍数。

实验实例：

1. 称取 0.1009g 竹叶样本，加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆，10000g 4℃离心 20min，取上清置冰上待测，之后按照测定步骤，用 1mL 玻璃比色皿测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 1.553 - 0.638 = 0.915$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$



准管-A 空白管=0.353-0.059=0.294; 按样本质量计算酶活得:

DAO 活性(U/g 质量) = $0.25 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F = 7.711 \text{ U/g 质量}$

2. 称取 0.1000g 十二指肠样本, 加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆, 10000g 4℃离心 20min, 取上清置冰上待测, 之后按照测定步骤, 用 1mL 玻璃比色皿测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.363 - 0.251 = 0.112$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.353 - 0.059 = 0.294$; 按样本质量计算酶活得:

DAO 活性(U/g 质量) = $0.25 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F = 0.952 \text{ U/g 质量}$

相关发表文献:

[1] Wang Y, Li B, Liu G, Han Q, Diao Y, Liu J. Corilagin attenuates intestinal ischemia/reperfusion injury in mice by inhibiting ferritinophagy-mediated ferroptosis through disrupting NCOA4-ferritin interaction. *Life Sci.* 2023 Dec 1;334:122176. doi: 10.1016/j.lfs.2023.122176. Epub 2023 Oct 18. PMID: 37858718.

[2] Wang Z, Qin X, Yuan J, Yin H, Qu R, Zhong C, Ding W. MicroRNA-483-3p Inhibitor Ameliorates Sepsis-Induced Intestinal Injury by Attenuating Cell Apoptosis and Cytotoxicity Via Regulating HIPK2. *Mol Biotechnol.* 2024 Feb;66(2):233-240. doi: 10.1007/s12033-023-00734-x. Epub 2023 Apr 19. PMID: 37074551.

[3] Meng X, Ge L, Zhang J, Xue J, Gonzalez-Gil G, Vrouwenvelder JS, Li Z. Systemic effects of nanoplastics on multi-organ at the environmentally relevant dose: The insights in physiological, histological, and oxidative damages. *Sci Total Environ.* 2023 Sep 20;892:164687. doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.164687. Epub 2023 Jun 7. PMID: 37290651.

[4] Li M, Wang F, Zhang C, Li MA, Wang T, Li YC, Fu FH. Integrated systematic pharmacology analysis and experimental validation to reveal the mechanism of action of Semen aesculi on inflammatory bowel diseases. *J Ethnopharmacol.* 2022 Nov 15;298:115627. doi: 10.1016/j.jep.2022.115627. Epub 2022 Aug 17. PMID: 35985613.

[5] Shi P, Zhao T, Wang W, Peng F, Wang T, Jia Y, Zou L, Wang P, Yang S, Fan Y, Zong J, Qu X, Wang S. Protective effect of homogeneous polysaccharides of Wuguchong (HPW) on intestinal mucositis induced by 5-fluorouracil in mice. *Nutr Metab (Lond).* 2022 May 18;19(1):36. doi: 10.1186/s12986-022-00669-1. PMID: 35585561; PMCID: PMC9118848.

相关系列产品:

BC0020/BC0025 丙二醛 (MDA) 含量检测试剂盒

BC0690/BC0695 葡萄糖氧化酶 (GOD) 活性检测试剂盒

BC1090/BC1095 黄嘌呤氧化酶 (XOD) 活性检测试剂盒

BC1070/BC1275 蛋白质羰基含量检测试剂盒

