

## 二胺氧化酶（DAO）活性检测试剂盒说明书

微量法

**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：BC1285

规格：100T/48S

**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 60 mL×1 瓶  | 2-8℃ 保存 |
| 试剂一  | 液体 2 mL×1 瓶   | 2-8℃ 保存 |
| 试剂二  | 液体 25 mL×1 瓶  | 2-8℃ 保存 |
| 试剂三  | 液体 5 mL×1 瓶   | 2-8℃ 保存 |
| 标准品  | 液体 140 μL×1 支 | 2-8℃ 保存 |

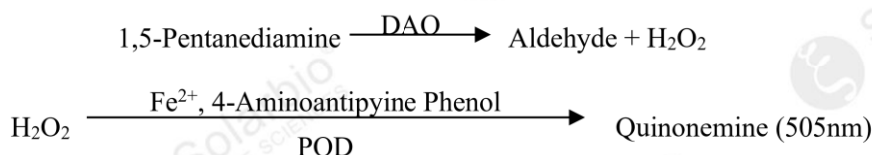
溶液的配制：

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. 0.5 μmol/mL 标准品的配制：取 20 μL 1000 μmol/mL 标准品和 980 μL 蒸馏水混合配成 20 μmol/mL 标准品；再取 25 μL 20 μmol/mL 标准品和 975 μL 蒸馏水混合配成 0.5 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，H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化亚铁氰化钾中的 Fe<sup>2+</sup> 生成 Fe<sup>3+</sup>，Fe<sup>3+</sup> 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/酶标仪、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液枪、微量玻璃比色皿/96 孔板、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（10<sup>4</sup>）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、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 505nm，分光光度计蒸馏水调零。
- 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        | 75  | 75  | -   | -   |
| 标准品       | -   | -   | 75  | -   |
| 试剂一       | 30  | -   | -   | -   |
| 试剂二       | 200 | 200 | 200 | 200 |
| 试剂三       | 40  | 40  | 40  | 40  |
| 蒸馏水       | -   | 30  | 30  | 105 |

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 200μL 上清液于微量玻璃比色皿/96 孔板，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  $\Delta A$  测定=A 测定管-A 对照管， $\Delta A$  标准=A 标准管-A 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  $H_2O_2$  定义为一个酶活性单位。

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

$$= 0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times F$$

- (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  $H_2O_2$  定义为一个酶活性单位。

$$\text{DAO 活性 (U/g 质量)} = C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{提取}} \div W \div T \times F = 0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F$$

- (3) 按细胞/细菌数量计算：

单位的定义：每小时每  $10^4$  个细胞/细菌分解尸胺产生 1μmol 的  $H_2O_2$  定义为一个酶活性单位。

$$\text{DAO 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{提取}} \div N \div T \times F = 0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div N \times F$$

- (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  $H_2O_2$  定义为一个酶活性单位。

$$\text{DAO 活性 (U/mL)} = C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样本}} \div T \times F = 0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F$$

C 标准：标准品浓度，0.5μmol/mL；V 提取：提取液体积，1mL；V 样本：加入反应体系中样本体积，0.075mL；Cpr：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， $10^4$ ；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 96 孔板测得计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 1.0176 - 0.4116 = 0.6060$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}}$



-A 空白管=0.3557-0.0767=0.279; 按样本质量计算酶活得:

DAO 活性 (U/g 质量) =  $0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F = 10.763 \text{ U/g 质量}$

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°C离心 20min, 取上清置冰上待测, 之后按照测定步骤, 用 96 孔板测得计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.2336 - 0.1803 = 0.0533$ ,  $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.3557 - 0.0767 = 0.279$ ; 按样本质量计算酶活得:

DAO 活性 (U/g 质量) =  $0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F = 0.955 \text{ U/g 质量}$

#### 相关发表文献:

[1] Gong Y, Lu Q, Liu Y, Xi L, Zhang Z, Liu H, Jin J, Yang Y, Zhu X, Xie S, Han D. Dietary berberine alleviates high carbohydrate diet-induced intestinal damages and improves lipid metabolism in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Front Nutr.* 2022 Sep 23;9:1010859. doi: 10.3389/fnut.2022.1010859. PMID: 36211485; PMCID: PMC9539808.

[2] Ma L, Luo Z, Huang Y, Li Y, Guan J, Zhou T, Du Z, Yong K, Yao X, Shen L, Yu S, Zhong Z, Hu Y, Peng G, Shi X, Cao S. Modulating gut microbiota and metabolites with dietary fiber oat 尾-glucan interventions to improve growth performance and intestinal function in weaned rabbits. *Front Microbiol.* 2022 Dec 15;13:1074036. Doi: 10.3389/fmicb.2022.1074036. PMID: 36590438; PMCID: PMC9798315.

[3] Li M, Wang S, Zhang C, Chi C, Liu R, Wang T, Fu F. Escin alleviates stress-induced intestinal dysfunction to protect brain injury by regulating the gut-brain axis in ischemic stroke rats. *Int Immunopharmacol.* 2023 Feb;115:109659. doi: 10.1016/j.intimp.2022.109659. Epub 2023 Jan 4. PMID: 36608442.

[4] Yang T, Lang W, Zhao Y, Yang Y, Liu H, Li S, Li X, Zhang S, Zhang H. Aucubin alleviates methotrexate-induced enteritis in rats by inducing autophagy. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2023 Nov;50(11):855-866. doi: 10.1111/1440-1681.13810. Epub 2023 Aug 15. PMID: 37582493.

[5] Du L, Zhu L, Lu X, Yu Y, Liu P, Pan J. Inhibition of the MLCK/MLC2 pathway protects against intestinal heat stroke-induced injury in rats. *J Therm Biol.* 2023 Aug;116:103655. doi: 10.1016/j.jtherbio.2023.103655. Epub 2023 Jul 16. PMID: 37506522.

#### 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

