

CheKine™ 二胺氧化酶 (DAO) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB1220

规格: 48 T/48 S 96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 血清 (浆)、动植物组织、细胞、细胞上清、细菌、尿液
	保质期: -20℃, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

二胺氧化酶 (Diamine Oxidase, DAO) (EC 1.4.3.6) 广泛存在于动物 (肠粘膜、肺、肝脏、肾脏等)、植物和微生物中。DAO 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。

本试剂盒检测原理是 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有色物质, 在 460 nm 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。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	75 mL	75 mL×2	4℃
Reagent I	0.24 mL	0.48 mL	4℃, 避光保存
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20℃, 避光保存
Reagent III	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 460 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水/PBS	试剂配制用/样本清洗用
其他	匀浆器 (组织样本)、恒温箱、制冰机、低温离心机、 可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 **2-3** 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存； Reagent I 有毒且有刺激性气味，建议在通风橱进行实验
Working Reagent II	临用前配制；48 T 加入 2.4 mL 去离子水充分溶解，96 T 加入 4.8 mL 去离子水充分溶解	未用完的已溶解的试剂可 4℃保存一周
Working Reagent III	临用前配制；48 T 加入 1.2 mL 去离子水，96 T 加入 2.4 mL 去离子水 37℃水浴充分溶解	未用完的已溶解的试剂分装后-20℃避光保存一周，避免反复冻融； Working Reagent III 有少许沉淀是正常现象

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

- **动物组织**：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，10000 g，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。
- **植物组织**：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer 捣碎，超声波破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），10000 g，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。
- **细胞或细菌**：收集 5×10^6 个细胞或细菌，用预冷的 PBS 清洗细胞或细菌，800 g 离心 2 min，弃上清。加入 1 mL Extraction Buffer 进行冰浴超声破碎。超声波破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），4℃，10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。
- **血清（浆）、细胞上清、尿液等液体样本**：直接测定。

05-3 实验步骤

- 1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 460 nm。
- 2. 恒温箱预热到 37℃。
- 3. Working Reagent I 的配制：临用前配制；根据用量将 Extraction Buffer 和 Reagent I 按照 108:2 的比例配制，现用现配。
- 4. 检测体系配制：在 96 孔板中依次按照如下方式操作

试剂	对照孔 (μL)	测定孔 (μL)
上清	50	50
Extraction Buffer	20	0
Working Reagent I	110	110
Working Reagent II	20	20
Working Reagent III	0	20

5. 吸光度检测：混匀，37℃孵育 10 min，测定 460 nm 处吸光值，分别记录为 A_{对照} 和 A_{测定}。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$

2. 样本 DAO 活性计算

● 按样本鲜重计算

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟催化产生 1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$DAO (U/g) = [\Delta A \div (d \times \epsilon) \times V_{\text{反应}}] \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 106.7 \times \Delta A \div W$$

● 按细胞或细菌数量计算：

单位的定义：每 10⁴ 个细胞或细菌在反应体系中每分钟催化产生 1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$DAO (U/10^4) = [\Delta A \div (d \times \epsilon) \times V_{\text{反应}}] \div (N \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \div T = 106.7 \times \Delta A \div N$$

● 按液体体积计算

单位的定义：每 mL 液体样本在反应体系中每分钟催化产生 1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$DAO (U/mL) = [\Delta A \div (d \times \epsilon) \times V_{\text{反应}}] \div V_{\text{样本}} \div T = 106.7 \times \Delta A$$

● 按蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生 1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$DAO (U/mg \text{ prot}) = [\Delta A \div (d \times \epsilon) \times V_{\text{反应}}] \div (Cpr \times V_{\text{样本}}) \div T = 106.7 \times \Delta A \div Cpr$$

d: 96 孔板的光径, 0.5 cm; ε: 氧化型邻联茴香胺消光系数, 7.5×10⁻³ mL/μmol/cm; V_{反应}: 反应总体积, 0.2 mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; V_{样本}: 加入样本体积, 0.05 mL; T: 反应时间, 10 min; W: 样本鲜重, g; V_{提取}: 加入 Extraction Buffer 体积, 1 mL; N: 细胞或细菌数量, 以 10⁴ 为单位 (例如细胞数量为 5×10⁶, N=500)。

07 结果展示

示例-1: 取 0.1 g 绿萝叶，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{测} = A_{测定} - A_{对照} = 0.264 - 0.225 = 0.039$ 。
按样本质量计算得：DAO (U/g) = $106.7 \times \Delta A \div W = 41.61$ U/g。

08 FAQ

- 检测得到的样本 ΔA 过高或者过低怎么办？
如果 ΔA 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 ΔA 大于 0.8，样本可适当稀释，或减少提取用样本量，再重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1310	CheKine™ 葡萄糖氧化酶（GOD）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1140	CheKine™ 多酚氧化酶（PPO）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1070	CheKine™ 黄嘌呤氧化酶（XO）活性分析试剂盒（微量法）
KTB1210	CheKine™ 超氧阴离子含量检测试剂盒（微量法）
KTB1200	CheKine™ 蛋白质羰基含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 二胺氧化酶（DAO）活性检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB1220)

