

人二胺氧化酶(DAO)检测试剂盒

(用于血清、血浆、细胞培养上清液和其它生物体内)

原理

二胺氧化酶是人类和哺乳动物小肠粘膜上层绒毛中具有高度活性的细胞内酶，在组胺和多种多胺代谢中起作用，其活性与粘膜细胞的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损伤程度。

本实验采用酶法在酶标板上反应，标准品和样品中的 DAO 与底物工作液显色，最后加终止液硫酸，在 450nm 处测 OD 值，DAO 浓度与 OD 值成正比，可通过绘制标准曲线求出标本中 DAO 浓度。

试剂盒组成 (2-8℃保存)

酶标板 (Coated Wells)	96孔	标准品 (Standards): 4U/ml	0.5ml
底物工作液 (TMB Solution)	12ml	终止液 (Stop Solution)	12ml

准备试剂与收集血样

1. 收集标本：血清、血浆 (EDTA、柠檬酸盐、肝素抗凝)、尿液、细胞培养上清液、组织匀浆等尽早检测，2-8℃保存 48 小时；更长时间须冷冻 (-20℃或-70℃) 保存，避免反复冻融。血清、血浆用蒸馏水至少 10 倍稀释。
2. 标准品液配制：设标准管 8 管，第一管加蒸馏水 950ul，第二至第八管加入蒸馏水 500ul。在第一管中加入 4U/ml 的标准品溶液 50ul 混匀后用加样器吸出 500ul，移至第二管。如此反复作对倍稀释，从第七管中吸出 500ul 弃去。第八管为空白对照。

检测程序

1. 加样：每孔各加入标准品或待测样品 20ul。
2. 每孔加入底物工作液 100ul，置 37℃暗处反应 15 分钟。
3. 每孔加入 100ul 终止液混匀。
4. 30 分钟内用酶标仪在 450nm 处测吸光值。

结果计算与判断

1. 所有 OD 值都应减除空白值后再行计算。
2. 以标准品 200、100、50、25、12.5、6.25、3.12、0U/L 为横坐标，OD 值为纵坐标，在坐标纸上作图，画出标准曲线。
3. 根据样品 OD 值在该曲线图上查出相应 DAO 含量，再乘上稀释倍数即可。

试剂盒性能

1. 灵敏度：最小的 DAO 检测浓度小于 2U/L。
2. 特异性：可同时检测重组或天然的 DAO。不与其他细胞因子有交叉反应。
3. 重复性：板内、板间变异系数均小于 10%。

注意事项

1. 以上标准孔及待测样品均建议做复孔，每次测定应同时做标准曲线。
2. 板条开封后剩余板条要再封好，保持板条干燥。
3. 本试剂盒宜置 4℃冰箱保存。
4. 本试剂盒仅用于科研，不能用于临床诊断！
5. 样本如果浑浊需要离心或稀释后检测。
6. 样本溶血会对结果造成干扰，应尽量避免溶血！