

淀粉去分支酶(DBE)试剂盒

(微板法 48 样)

产品简介:

淀粉去分支酶(DBE) (EC 3.2.1.68) 属于淀粉水解酶家族, 特异性地水解支链淀粉的 α -1, 6 糖苷键, 产生线性的葡萄糖链, 在调整支链淀粉分子的链长方面有重要的作用。

采用 3, 5-二硝基水杨酸法测定 DBE 催化支链淀粉产生的还原糖, 通过测定还原糖含量的变化来得到 DBE 酶活性大小。

试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体 30mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉剂 mg×1 瓶	4°C保存	临用前甩几下, 使试剂落入底部, 再加 24mL 试剂一, 于 80°C水浴锅中溶解呈透明状态, 待冷却后使用。
试剂三	液体 30mL×1 瓶	4°C保存	
试剂四	液体 12mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉剂 mg×1 支	4°C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂

所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、水浴锅、台式离心机、研钵、冰、蒸馏水

淀粉脱分支酶（DBE）活性检测：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

[注]：若增加样本量，可按照组织质量(g)：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长到 540 nm。

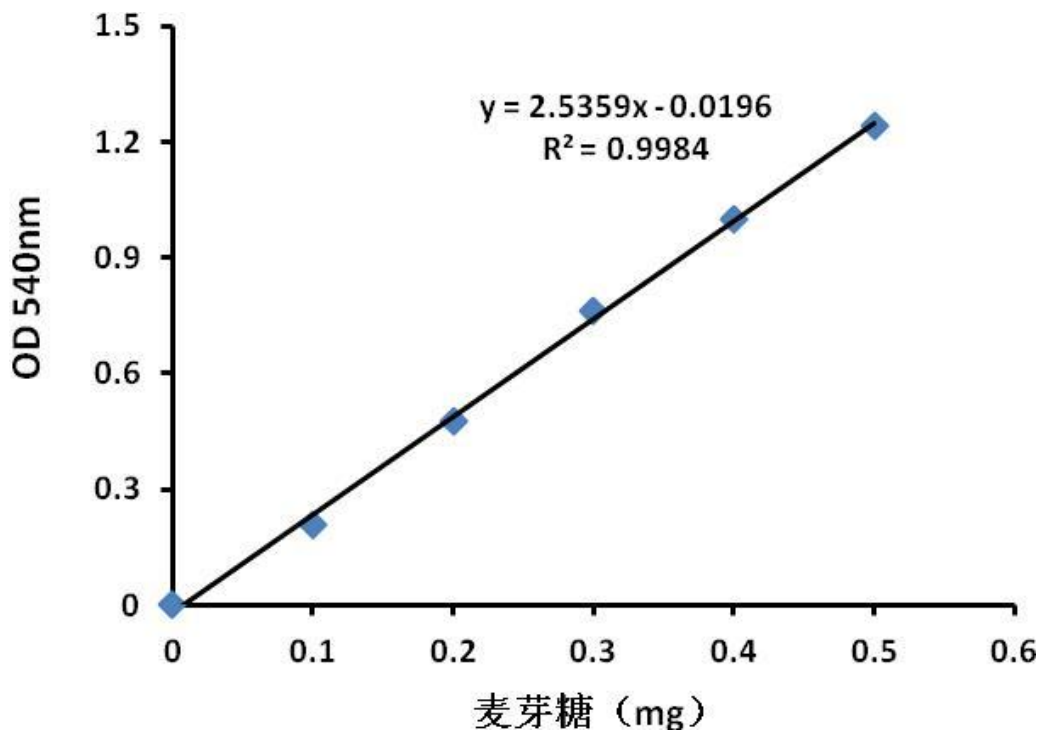
② 在 EP 管中依次加入：

试剂名称	测定管	对照管
样本	20	20(95℃煮沸 10min 的酶液)
试剂二	200	200
37℃ 孵育 30min		
试剂三	280	280
试剂四	100	100
混匀，95℃显色 10min 后，流水冷却至室温后，取出 200 μ L 至 96 孔板中，于 540nm 处读取吸光值 A， $\Delta A=A$ 测定-A 对照。		

【注】:若 ΔA 差值较小, 可加大样本量, 或延长孵育时间至 1 小时或更长。则改变后的加样量 V1 或反应时间 T 需重新代入公式计算。

结果计算:

1、标准曲线: $y = 2.5359x - 0.0196$, x 是标准品质量 (mg) , y 是 ΔA 。



2、按照蛋白浓度计算:

酶活定义: 每毫克组织蛋白每小时水解支链淀粉产生 1mg 还原糖 (以麦芽糖计) 定义为一个酶活力单位。

$$\text{DBE 活力}(\text{mg/h/mg prot}) = [(\Delta A + 0.0196) \div 2.5359] \div (V1 \times Cpr) \div T$$

$$= 39.43 \times (\Delta A + 0.0196) \div Cpr$$

3、按样本鲜重计算:

酶活定义：每克组织每小时水解支链淀粉产生 1mg 还原糖（以麦芽糖计）定义为一个酶活力单位。

$$\text{DBE 活力}(\text{mg /h/g 鲜重})=[(\Delta A+0.0196)\div 2.5359]\div(W\times V1\div V)\div T$$
$$=39.43\times(\Delta A+0.0196)\div W$$

V----加入提取液体积，1 mL； V1----反应中样品体积，20 μ L=0.02mL；

W----样品质量，g； T----反应时间，30min=0.5h；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒；

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（50mg/mL）：临用前加 1mL 蒸馏水，充分溶解混匀。
- 2 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0,5,10,15,20, 25mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 按照测定管加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线。