

# 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 $\alpha$ -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 60 mL×1 瓶 | 4°C 保存 |  |
| 试剂一  | 液体 30 mL×1 瓶 | 4°C 保存 |  |
| 试剂二  | 粉剂 mg×1 瓶    | 4°C 保存 | 临用前用几下, 使试剂落入底部, 再加 24 mL 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 30 mL×1 瓶 | 4°C 保存 |  |
| 试剂四  | 液体 12 mL×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°C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。

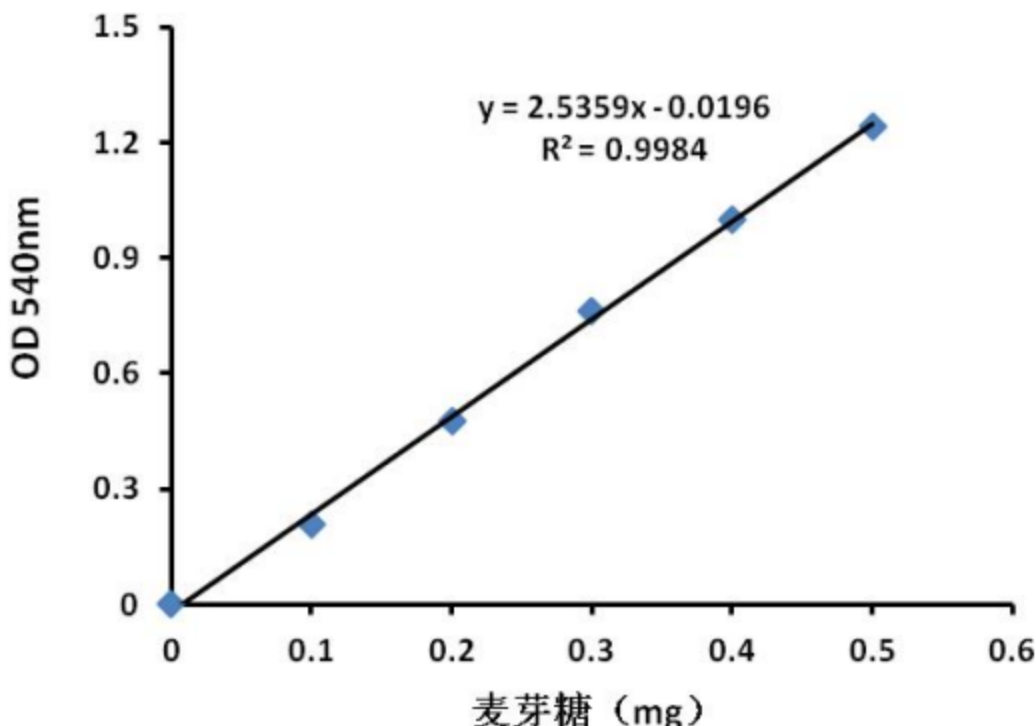
② 在 EP 管中依次加入:

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

[注]: 若 $\Delta A$  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 $\Delta A$ 。



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。

$$\begin{aligned} \text{DBE 活力}(\text{mg/h/mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0196) \div 2.5359] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \\ &= 39.43 \times (\Delta A + 0.0196) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

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。

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

V----加入提取液体积, 1 mL; V1----反应中样品体积, 20 $\mu$ 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。

mlbio 酶联生物  
Good elisakit producers