

淀粉脱分支酶（Starch debranching enzyme，DBE）试剂盒

分光法 24 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 30mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 25mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂 mg×1 瓶	4℃保存	临用前甩几下，使试剂落入底部，再加 18mL 试剂一，于 80℃水浴锅中溶解呈透明状态，待冷却后使用。
试剂三	液体 25mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	液体 8mL×1 瓶	4℃保存	
试剂五	粉剂 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

所需的仪器和用品

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、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:

① 组织样本:

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 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长到 540 nm, 蒸馏水调零。

② 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	30
试剂二	300
37℃ 孵育 30min。	
试剂三	420
试剂四	150
混匀, 95℃ 显色 10min 后, 流水冷却至室温后, 全部液体转移至 1mL	

玻璃比色皿中，于 540nm 处读取吸光值 A ， $\Delta A = A$ 测定 - A 对照。

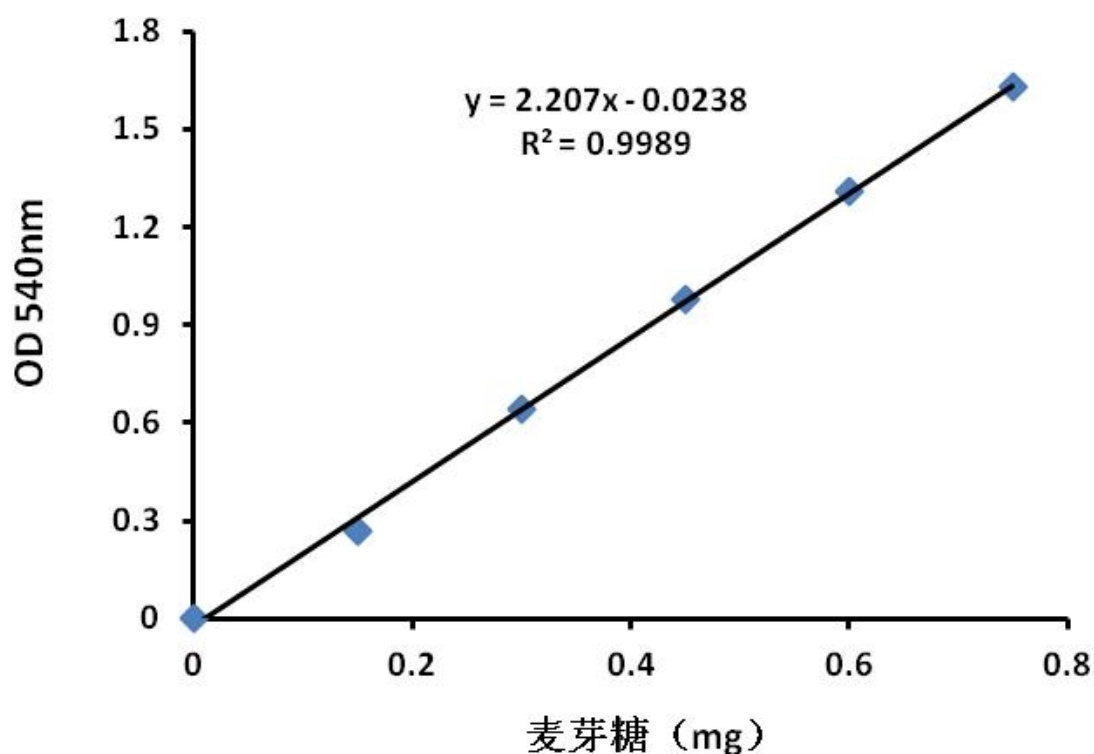
[注]: 若 ΔA 差值较小，可加大样本量，或延长孵育时间至 1 小时或更长。

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:

$y = 2.207x - 0.0238$, 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。

DBE 活力(mg/h/mg prot) = $[(\Delta A + 0.0238) \div 2.207] \div (V1 \times Cpr) \div T$

$$=30.21 \times (\Delta A + 0.0238) \div \text{Cpr}$$

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。

$$\text{DBE 活力}(\text{mg/h/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0238) \div 2.207] \div (W \times V1 \div V) \div T$$

$$=30.21 \times (\Delta A + 0.0238) \div W$$

V----加入提取液体积, 1 mL; V1----反应中样品体积, 30 μ L=0.03mL;

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。