



淀粉去分支酶(DBE)试剂盒

可见分光光度法

货号: R43954-24S

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。

试剂盒组分与配制:

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	室温保存	临用前甩几下, 使试剂落入底部, 再加5.5mL试剂一, 于90℃水浴锅中溶解呈透明状态, 待冷却后使用, 室温保存
试剂三	液体26mL×1瓶	4℃保存	
试剂四	液体8mL×1瓶	4℃保存	
标准品	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样本(如果实样本)含有高还原糖(果糖和葡萄糖),可按照以下步骤处理样本:

称取约0.2g 组织(水分充足的样本可取1g), 加入1mL 经预冷的95%乙醇冰浴匀浆, 4℃放置10min; 12000rpm, 4℃离心5min; 弃上清, 留沉淀, 向沉淀中加入经预冷的85%乙醇混匀, 4℃放置10min;12000rpm,4℃离心 5min; 弃上清, 留沉淀。再向沉淀中加入1mL 经预冷提取液, 涡旋混匀, 4℃放置10min;12000rpm,4℃离心10min; 留上清, 弃沉淀。上清液置冰上待测。

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。

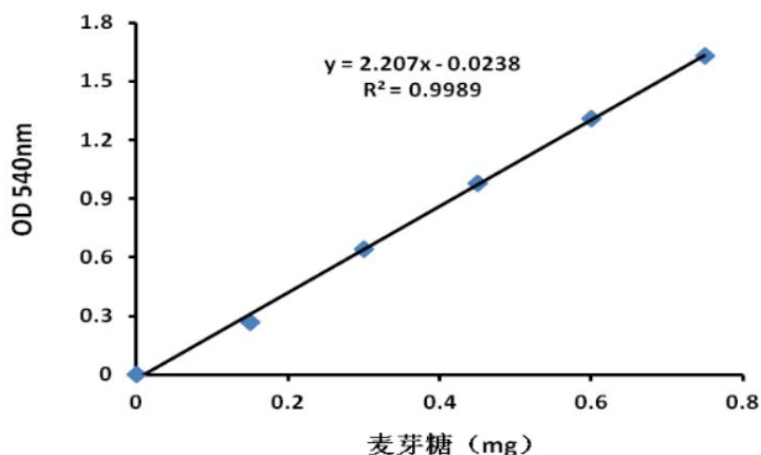
②所有试剂可置于37℃水浴中孵育15min 左右。

③在EP管中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	物 对照管
样本	30	30
试剂一	150	300
试剂二	150	
混匀后, 于37℃孵育30min		
试剂三	420	420
试剂四	150	150
混匀, 95℃显色10min后, 流水冷却至室温后, 全部澄清液体(如浑浊可离心后取上清测定)转移至1mL玻璃比色皿(光径1cm)中, 于540nm处读取吸光值A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个测定管做一个自身对照)。		

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。

$$\text{DBE活力}(\text{mg/h/mg prot}) = [(\Delta A + 0.0238) \div 2.207] \div (V1 \times Cpr) \div T$$
$$= 30.21 \times (\Delta A + 0.0238) \div Cpr$$

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, 1mL;

V1----反应中样品体积, 30 μL =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。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 400-666-5481 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: 3008007435@qq.com

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。



源叶