

淀粉去分支酶(DBE)试剂盒(微板法)

产品货号: BA3180

产品规格: 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。

产品内容:

试剂名称	规格	保存温度	
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	液体30mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	粉剂mg×1瓶	2-8℃	临用前甩几下, 使试剂落入底部, 再加24mL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30mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	液体12mL×1瓶	2-8℃	
标准品	粉剂mg×1支	2-8℃	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540nm。

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, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。		



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

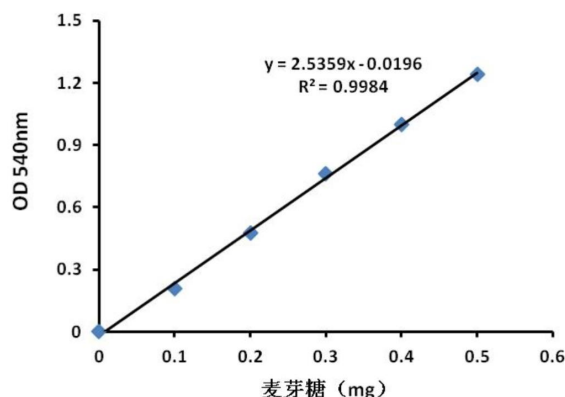
邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

【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。

计算公式：

1. 标准曲线方程： $y = 2.5359x - 0.0196$ ，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。

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

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，1mL； 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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>