

## 淀粉脱分支酶 (DBE)活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHD3-C24	淀粉脱分支酶 (DBE)活性检测试剂盒	24T	常量法
PMHD3-C48		48T	

### 一、测定意义：

淀粉脱分支酶 (DBE) 活性测定是研究淀粉结构重塑的关键环节，其活性水平直接影响支链淀粉精细结构的形成与淀粉颗粒结晶度，对解析作物淀粉品质调控机制、优化食品与工业淀粉加工特性、探究淀粉代谢相关生理病理过程具有重要科学价值与实践指导意义。

### 二、测定原理：

DBE催化支链淀粉产生还原糖，其与3,5-二硝基水杨酸反应生成棕红色物质，通过测定其在540nm下吸光值变化可计算得DBE活性。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	2-8℃保存
<b>试剂二的配制：</b> 临用前每支试剂二粉剂加入10 mL试剂一，加热煮沸使其完全溶解。			
试剂三	液体 12mL×1 瓶	液体 24mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品 (10mg)	粉剂 ×1 支	粉剂 ×1 支	2-8℃保存
<b>标准液的配制：</b> 使用前加入1 mL蒸馏水溶解，配成10 mg/mL 葡萄糖溶液备用。			

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量 (g)：提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液)，旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

#### 测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零；
- 2、临用前将 10mg/mL 标准液用蒸馏水稀释为 0.5、0.4、0.3、0.2、0.1mg/mL 的标准溶液备用；
- 3、取 50 μL 样本沸水浴 5min (缠封口膜，防止爆盖)，冷却至室温后，8000g，常温离心 5min，取上清备用。
- 4、样本测定（在离心管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
样本 (μL)	25	-	-	-
煮沸的样本 (μL)	-	25	-	-
不同浓度标准液 (μL)	-	-	25	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	25
试剂二 (μL)	150	150	150	150
混匀，30℃保温 30min 后煮沸 1min				
试剂三 (μL)	175	175	175	175
沸水浴 5min				
蒸馏水 (μL)	1400	1400	1400	1400
混匀后 8000g，4℃离心 5min，取 1mL 在石英比色皿中，在波长 540nm 处读取吸光度值，分别记为 A <sub>对照</sub> ，A <sub>测定</sub> ，A <sub>标准</sub> ，A <sub>空白</sub> 。计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ ，每个测定管需设一个对照管，标准管和空白管只需测 1-2 次。				

#### 五、DBE 活性计算：

1、 标准曲线的绘制：以各个标准溶液的浓度为 y 轴，其对应的  $\Delta A_{标准}$  为 x 轴，绘制标准曲线，得到标准方程  $y = kx + b$ ，将  $\Delta A_{测定}$  带入方程得到  $y(\text{mg/mL})$ 。

#### 2、按蛋白浓度计算

**单位定义：**每 mg 蛋白每小时分解支链淀粉产生 1mg 葡萄糖为 1 个酶活力单位。

**计算公式：**DBE(U/mg prot) =  $y \times V_{\text{提取}} \div (V_{\text{提取}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 2 \times y \div C_{\text{pr}}$

#### 3、按样本质量计算

**单位定义:** 每 g 样本每小时分解支链淀粉产生 1mg 葡萄糖为 1 个酶活力单位。

**计算公式:**  $DBE(U/g) = y \times V_{\text{提取}} \div W \div T = 2 \times y \div W$

$V_{\text{提取}}$ : 提取液体积, 1mL;  $V_{\text{样}}$ : 加入的样本体积, 0.025mL;  $C_{\text{pr}}$ :

样本蛋白浓度, mg/mL, 蛋白浓度自行测定;  $W$ : 样本质量, g;  $T$ :

反应时间: 0.5h。

## 六、注意事项:

1、 $A$  大于 1 时, 建议将样本用提取液稀释后再进行测定。注意同步修改计算公式。

2、建议每次实验沸水浴后冷却时间保持一致。

3、为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书(以实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定。

## 【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

## 【售后微信】



## 【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日