

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-M48	淀粉脱分支酶 (DBE)活性检测试剂盒	48T	微量法
PMHD3-M96		96T	

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(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×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支	粉剂 ×2 支	2-8℃保存
试剂二的配制： 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 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品 (10mg)	粉剂 ×1 支	粉剂 ×1 支	2-8℃保存
标准液的配制： 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、酶标仪预热 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 20 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（96 孔板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)	10	-	-	-
煮沸的样本 (μL)	-	10	-	-
不同浓度标准液 (μL)	-	-	10	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	10
试剂二 (μL)	60	60	60	60
混匀，30℃保温 30min 后煮沸 1min				
试剂三 (μL)	80	80	80	80
沸水浴 5min				
蒸馏水 (μL)	200	200	200	200
混匀后 8000g，4℃离心 5min，取 200μL 在 96 孔板中，在波长 540nm 处读取吸光度值，分别记为 A _{对照} ，A _{测定} ，A _{标准} ，A _{空白} 。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(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： $DBE(U/mg \text{ prot}) = y \times V_{提取} \div (V_{提取} \times C_{pr}) \div T = 2 \times y \div C_{pr}$

3、按样本质量计算

单位定义：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，0.010mL；Cpr：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