

上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

## 淀粉分支酶 (Starch branching enzyme, SBE) 试剂盒说明书

### 微量法

**注意：**正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

#### 测定意义

SBE (EC 2.4.1.18) 主要存在于植物中，是参与支链淀粉合成的关键酶，测定SBE活性在淀粉生物合成、优质农作物品种选育和品质遗传改良研究中具有重要意义。

#### 测定原理

淀粉和碘结合后在660nm有特征光吸收，SBE可切断支链淀粉侧支，从而降低了淀粉-碘复合物在660nm吸收值，一定时间内吸光度下降的百分率可以反映SBE活性。

#### 需自备的的仪器和用品

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔板、研钵、冰、蒸馏水

#### 试剂的组成和配制：

| 种类  | 试剂规格       | 储存条件 | 使用方法及注意事项                          |
|-----|------------|------|------------------------------------|
| 提取液 | 液体100mL×1瓶 | 4℃保存 | -                                  |
| 试剂一 | 液体10mL×1瓶  | 4℃保存 | -                                  |
| 试剂二 | 粉剂×1支      | 4℃保存 | 临用前每支加入1mL蒸馏水，充分溶解后备用；用不完的试剂 4℃保存； |
| 试剂三 | 液体13mL×1瓶  | 4℃保存 | -                                  |
| 试剂四 | 液体1mL×1瓶   | 4℃保存 | -                                  |

#### 粗酶液提取

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)，进行冰浴匀浆。15000g 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，调节波长到660nm，蒸馏水调零。

#### 2、加样表

| 试剂名称 (μL)                                       | 对照管 | 测定管 |
|---|-----|-----|
| 95℃水浴1min后灭活的粗酶液                                | 65  |     |
| 粗酶液   |     | 65  |
| 试剂一   | 85  | 85  |
| 试剂二   | 10  | 10  |
| 混匀，37℃准确保温 20 min，置 95℃水浴中 1 min (盖紧，防止水分散失)，冷却 |     |     |
| 试剂三   | 130 | 130 |
| 试剂四   | 10  | 10  |

混匀，室温静置10min，取200uL至微量石英比色皿或96孔板中，660nm处读取各管吸光值。每个测定管需设一个对照管。

注意：

- 1、可以在不同对照管中加入不同样品的粗酶液，然后集中进行 1min 95°C沸水浴处理。
- 2、试剂一如有沉淀，加入之前要使之充分溶解混匀。

**SBE 活力单位的计算**

1、按照蛋白浓度计算

单位的定义：以波长660nm的吸光度下降百分率表示，每mg蛋白在反应体系中每降低1%碘蓝值为一个酶活性单位。

$$\text{SBE 活性 (U/mg prot)} = (\text{A 对照管} - \text{A 测定管}) / \text{A 对照管} \div \text{Cpr} \times 100$$

2、按照样本鲜重计算

单位的定义：以波长660nm的吸光度下降百分率表示，每g组织在反应体系中每降低1%碘蓝值为一个酶活性单位。

$$\text{SBE 活性 (U/g 鲜重)} = (\text{A 对照管} - \text{A 测定管}) / \text{A 对照管} \div (\text{W} \div \text{V 样总}) \times 100$$

V 样总：提取液总体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样品质量，g；T：反应时间，5min。