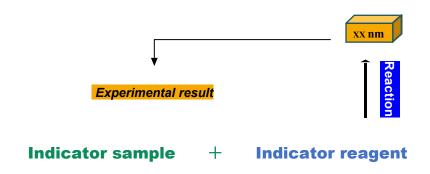


上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图



货号: ZC-S0505 规格: 100管/48样

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°C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。每个测定管需设个一个对照管。

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℃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。

SBE 活性(U/mg prot)=(A 对照管-A 测定管)/A 对照管÷Cpr ×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。

SBE 活性(U/g 鲜重)=(A 对照管-A 测定管)/A 对照管÷(W÷V 样总)×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。