

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0505

Size: 100T/48S

淀粉分支酶 (SBE) 检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、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。

二、测定原理:

淀粉和碘结合后 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 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。

三、需自备的仪器和用品:

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

四、试剂的组成和配置:

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°C 保存	
试剂一	液体 10mL × 1 瓶	4°C 保存	
试剂二	粉剂 × 1 支	4°C 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°C 保存;
试剂三	液体 13mL × 1 瓶	4°C 保存	
试剂四	液体 1mL × 1 瓶	4°C 保存	

五、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°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

六、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°C 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°C 准确保温 20 min, 置 95°C 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 200μL 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:

- 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。
- 试剂一如有沉淀, 加入之前要使之充分溶解混匀。

七、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。

