

淀粉分支酶（SBE）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
PMHD4-C24	淀粉分支酶（SBE）试剂盒	24T	常量法

产品说明：

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。

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。

试剂组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体25 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体20 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×2 支	2-8℃保存
试剂三	液体25 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体5 mL×1 瓶	2-8℃保存

溶液的配制：

1、试剂二：临用前加入1 mL 蒸馏水，缓慢加热，逐渐升温至沸腾，使其充分溶解，备用，2-8℃保存4周。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

称取约0.1g 组织加入1mL 提取液，冰浴中匀浆。15000g，4℃离心15min，取上清，置冰上待测。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计预热30min以上，调节波长至660nm，蒸馏水调零。

2. 样本测定：

试剂名称 (μL)	对照管	测定管
煮沸1min后灭活的样本	250	
样本		250
试剂一	320	320
试剂二	30	30
混匀，37℃水浴锅/恒温培养箱准确保温20min，置沸水浴中1min终止反应（盖紧防止水分散失），冷却		
试剂三	500	500

试剂四	100	100
-----	-----	-----

混匀，室温静置 10min，660nm 处读取各管吸光值，分别记为A 对照管、A 测定管。每个测定管需设一个对 照管。

注意：若有样本浑浊，建议离心后取上清测定。

三、SBE 活力单位计算

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 1mL 反应体系中每分钟降低 1%碘蓝值 为一个酶活性单位。

$$\text{SBE 活性(U/mg prot)} = (\text{A 对照管} - \text{A 测定管}) \div \text{A 对照管} \times 100\% \div 1\% \div (\text{Cpr} \times \text{V 样本}) \times \text{V 反应} \div \text{T} = 24 \times (\text{A 对照管} - \text{A 测定管}) \div \text{A 对照管} \div \text{Cpr}$$

2、按照样本质量计算

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 1mL 反应体系中每分钟降低 1%碘蓝值为 一个酶活性单位。

$$\text{SBE 活性(U/g 质量)} = (\text{A 对照管} - \text{A 测定管}) \div \text{A 对照管} \times 100\% \div 1\% \div (\text{W} \div \text{V 提取} \times \text{V 样本}) \times \text{V 反应} \div \text{T} = (\text{A 对照管} - \text{A 测定管}) \div \text{A 对照管} \div \text{W} \times 24$$

V 样本：加入样本体积，0.25mL；V 提取：加入提取液体积，1mL；Cpr：蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；V 反应：反应体系体积，1.2mL；T：反应时间，20min。

注意事项：

- 可以在不同对照管中加入不同的样本，然后集中进行 1min 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。