

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

（货号：ADS-W-DF010 微板法 48 样 有效期：6 个月）

一、指标介绍：

淀粉分支酶（SBE, EC 2.4.1.18）是参与支链淀粉合成的关键酶之一，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。

SBE 可使底物含量减少，从而降低底物与碘显色剂形成的在 660nm 有最大吸收峰的蓝色复合物，一定时间内吸光度下降的百分率可以反映 SBE 酶活性的大小。

二、试剂盒组分与配制：

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体 2 支	室温保存	每支： 1. 开盖前注意使粉体落入底部（可手动甩一甩）； 2. 每支加1.6mL蒸馏水混合，煮沸至呈现透明溶解状态，待冷却后使用，室温保存即可。
试剂三	液体 40mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	液体 2mL×1 支	4℃避光保存	

三、实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、淀粉分支酶（SBE）活性测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取：

称取约 0.1g 组织（水分充足可适当增加样本取样质量），加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。
4℃×12000rpm 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例进行提取

2、检测步骤：

- ① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 660nm。
- ② 试剂一和二可提前于 37 度水浴锅孵育 15-30min。
- ③ 在 EP 管中依次加入：

试剂组分（μL）	测定管	对照管	空白管（仅做一次）
样本	10	10	
蒸馏水		50	10
试剂一	100	100	100
试剂二	50		50
37℃孵育 10min，沸水浴 5min，流水冷却至室温。			
试剂三	400	400	400
试剂四	20	20	20
混匀，室温显色 10min 后，取出 200μL 澄清液体（若浑浊可离心后取上清测定）至 96 孔板中，于 660nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{空白}} - (A$			

测定-A 对照) (每个测定管需设一个对照管)。

【注】1.若 ΔA 差值小于 0.01, 可增加样本量 V_1 (如由 10 μ L 增至 40 μ L, 则试剂一相应减少)。或延长孵育时间 T (如由 10min 增至 30min 或更长), 或增加取样质量 W 。则改变后的 V_1 和 T 和 W 需重新代入公式计算。

2.若 A 测定和 A 对照的值接近, 说明样本中酶活性较高, 可对样本上清液用蒸馏水稀释后再测定, 则稀释倍数 D 带入公式计算。

五、结果计算:

1、按照蛋白浓度计算:

酶活定义: 以波长 660nm 的吸光度下降百分率表示, 每毫克蛋白每降低 1% 碘蓝值为一个酶活性单位。

$$\text{SBE 活性(U/mg prot)} = \Delta A / A_{\text{空白}} \times 100\% \div (V_1 \times \text{Cpr}) \times D = 100 \times \Delta A / A_{\text{空白}} \div \text{Cpr} \times D$$

2、按照样本鲜重计算:

酶活定义: 以波长 660nm 的吸光度下降百分率表示, 每克组织每降低 1% 碘蓝值为一个酶活性单位。

$$\text{SBE 活性(U/g 鲜重)} = \Delta A / A_{\text{空白}} \times 100\% \div (W \times V_1 \div V) \times D = 100 \times \Delta A / A_{\text{空白}} \div W \times D$$

V ---加入提取液体积, 1 mL;

V_1 ---加入样本体积, 0.01mL;

W ---样本质量, g;

D ---稀释倍数, 未稀释即为 1;

Cpr ---样本蛋白质浓度, mg/mL, 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。