

## Starch Branching Enzyme Activity kit

### 淀粉分支酶（SBE）试剂盒说明书

货号: BN72188 | 方法: 微板法 | 规格: 48 样

#### 一、产品简介:

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:

| 试剂名称 | 规格          | 保存要求 | 备注                                                        |
|------|-------------|------|-----------------------------------------------------------|
| 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 mg×2 支   | 室温保存 | 临用前甩几下，使试剂落入底部，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×2 支  | 4℃保存 |                                                           |

#### 三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰、蒸馏水。

#### 四、淀粉分支酶（SBE）活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

##### 1、样本制备:

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、上机检测:

- 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：

| 试剂名称（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， $\Delta A = A_{\text{空白}} - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}})$ （每个测定管需设一个对照管）。 |     |     |           |

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；  
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

## 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。

$$\text{SBE 活性(U/mg prot)} = \Delta A / A_{\text{空白}} \times 100\% \div (V1 \times \text{Cpr}) \times D = 100 \times \Delta A / A_{\text{空白}} \div \text{Cpr} \times D$$

### 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。

$$\text{SBE 活性(U/g 鲜重)} = \Delta A / A_{\text{空白}} \times 100\% \div (W \times V1 \div V) \times D = 100 \times \Delta A / A_{\text{空白}} \div W \times D$$

V---加入提取液体积，1 mL；

V1---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。