

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)活性检测试剂盒	24T	常量法
PMHD4-C48		48T	

一、测定意义：

淀粉分支酶（SBE）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。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	2-8℃保存
试剂二的配制：临用前每支试剂二粉剂加入30 mL试剂一，加热煮沸使其完全溶解。			
试剂三	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 60 mL×1 瓶	液体 120 mL×1 瓶	2-8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，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），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，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，调节波长至 660nm，蒸馏水调零；

2、取 50 μL 样本沸水浴 5min (缠封口膜，防止爆盖)使其失活，冷却至室温后，8000g，常温离心 5min，取上清备用。

3、样本测定（在离心管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管
煮沸样本（μL）	-	25
样本（μL）	25	-
反应液（μL）	250	250
30℃保温 30min		
试剂三（μL）	250	250
试剂四（μL）	500	500
充分混匀，在波长 660nm 处读取各管吸光度值，记为 A _{测定} ，A _{对照} ，计算 $\Delta A = A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}$ 。		

五、SBE 活性计算：

1、按蛋白浓度计算

单位定义：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。

计算公式： $SBE (U/mg \text{ prot}) = \Delta A \div A_{\text{对照}} \div 1\% \times V_{\text{反应液}} \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T$
 $= 136.66 \times \Delta A \div A_{\text{对照}} \div Cpr$

2、按样本质量计算

单位定义：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。

计算公式： $SBE (U/g) = \Delta A \div A_{\text{对照}} \div 1\% \times V_{\text{反应液}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$
 $= 136.66 \times \Delta A \div A_{\text{对照}} \div W$

$V_{\text{样}}$ ：样本取样量，0.025mL； $V_{\text{反应液}}$ ：反应液总体积，1.025mL； $V_{\text{样总}}$ ：

提取液总体积，1mL； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； T ：

反应时间，30min； W ：样品质量，g。

六、注意事项：

为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】**【说明书核准及修改日期】**

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日