

## 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-M48	淀粉分支酶(SBE)活性检测试剂盒	48T	微量法
PMHD4-M96		96T	

### 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(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 10mL×1 瓶	液体 20mL×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10 mL试剂一，加热煮沸使其完全溶解。			
试剂三	液体 6mL×1 瓶	液体 12mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 15 mL×1 瓶	液体 30 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、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 660nm，蒸馏水调零；

2、取 20 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）	-	5
样本（μL）	5	-
反应液（μL）	50	50
30℃保温 30min		
试剂三（μL）	50	50
试剂四（μL）	100	100
充分混匀，在波长 660nm 处读取各管吸光度值，记为 A <sub>测定</sub> ，A <sub>对照</sub> ，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<sub>样</sub>：样本取样量，0.005mL；V<sub>反应液</sub>：反应液总体积，0.205mL；V<sub>样总</sub>：

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