

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

微量法100管/48样

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

测定意义

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。

测定原理

直链淀粉和碘结合后在660nm有特征光吸收，SBE使直链淀粉含量减少，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。

需自备的的仪器和用品

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔板、研钵、冰、蒸馏水

试剂的组成和配制

提取液：液体100mL×1瓶，4℃保存；

试剂一：液体10mL×1瓶，4℃保存；

试剂二：粉剂×1支，4℃保存；临用前每支加入1mL蒸馏水，95℃沸水浴充分溶解后备用；用不完的试剂4℃保存；

试剂三：液体13mL×1瓶，4℃保存；

试剂四：液体1mL×1瓶，4℃保存；

粗酶液提取

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），进行冰浴匀浆。15000g 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，调节波长到660 nm，蒸馏水调零。

2、加样表

试剂名称（ $\mu$ L）	对照管	测定管
95℃水浴1min后灭活的粗酶液	65	
粗酶液		65
试剂一	85	85
试剂二	10	10

混匀，37℃准确保温20 min，置95℃水浴中5 min（盖紧，防止水分散失），冷却

试剂三	130	130
试剂四	10	10

混匀，室温静置10min，取200uL至微量石英比色皿或96孔板中，660nm处读取各管吸光值。每个测定管需设个一个对照管。

注意：

1、可以在不同对照管中加入不同样品的粗酶液，然后集中进行5min 95°C沸水浴处理。2、试剂二如有沉淀，务必沸水浴溶解后使用。

SBE活力单位的计算

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蛋白在反应体系中每降低1%碘蓝值为一个酶活性单位。

SBE活性(U/mg prot)=( A对照管-A测定管)/A对照管÷Cpr ×100

2、按照样本鲜重计算

单位的定义：以波长660nm的吸光度下降百分率表示，每g组织在反应体系中每降低1%碘蓝值为一个酶活性单位。

SBE活性(U/g 鲜重)=(A对照管-A测定管)/A对照管÷(W÷V样总)×100

V样总：提取液总体积，1mL； Cpr： 样本蛋白质浓度， mg/mL； W： 样品质量， g。