

## 淀粉分支酶（SBE）检测试剂盒（微量法）

**注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。**

### 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。

### 试剂组成和配制：

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（ $\mu\text{L}$ ）	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。

## 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。

$$\text{SBE 活性(U/mg prot)} = (\text{A 对照管} - \text{A 测定管}) / \text{A 对照管} \div \text{Cpr} \times 100$$

### 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。

$$\text{SBE 活性(U/g 鲜重)} = (\text{A 对照管} - \text{A 测定管}) / \text{A 对照管} \div (\text{W} \div \text{V 样总}) \times 100$$

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。

## 注意事项：

- 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℃ 沸水浴处理。
- 2、试剂二如有沉淀，务必沸水浴溶解后使用。