

淀粉分支酶（SBE）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1160

保存：4℃保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：植物组织、细菌

产品简介

淀粉分支酶（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，催化直链淀粉变为支链淀粉。测定淀粉分支酶（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。本试剂盒提供了一种简单的比色法来检测植物组织、细菌等样本中 SBE 活性，其原理是：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。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
反应缓冲液	10mL	20mL	4℃保存
底物	1	1	4℃保存
显色物	1mL	2mL	4℃避光保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 660nm 处的吸光度）

恒温箱、制冰机、低温离心机

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

反应缓冲液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

底物：临用前 96T 加入 6mL 去离子水，48T 加入 3mL 上下颠倒摇晃几次，加热至溶解。溶解后的底物 4℃保存，若有沉淀析出，可 70℃加热溶解后使用。

显色物：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

样本制备

1. 植物组织：称取约 0.1g 组织加入 1mL 提取液，冰浴中匀浆。15,000g，4℃离心 15min，取上清，置冰上待测。

2. 细菌：收集 500 万细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细菌，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），15,000g，4℃离心 15min，取上清，置冰上待测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 Bradford 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

产品说明书

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 660nm；可见分光光度计去离子水调零。恒温箱预热到 37℃。
2. 样本测定（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

	对照管（ μL ）	测定管（ μL ）
煮沸 1min 后灭活的样本	65	0
样本	0	65
反应缓冲液	85	85
底物	25	25

混匀，37℃准确保温 20min，置沸水浴中 5min 终止反应（盖紧防止水分散失），冷却

去离子水	115	115
显色物	10	10

3. 混匀，立刻取 200 μL 至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，660nm 处读取各管吸光值，分别记为 $A_{\text{对照}}$ ， $A_{\text{测定}}$ 。
注意：每个测定管需设一个对照管，可以在不同对照管中加入不同样品的粗酶液，然后集中进行煮沸 1min 处理。底物使用中如有沉淀，务必 70℃ 浴溶解后使用。

结果计算

A. 使用 96 孔板测定的计算公式

1. 按照样本质量计算

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分钟降低 0.5% 碘蓝值为一个酶活性单位。

$$\text{SBE 活性 (U/g 质量)} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}) \div A_{\text{对照}} \times V_{\text{反应}} \times 100\% \div 0.5\% \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div T$$
$$= 46.15 \times (A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}) \div A_{\text{对照}} \div W$$

2. 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分钟降低 0.5% 碘蓝值为一个酶活性单位。

$$\text{SBE 活性 (U/mg prot)} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}) \div A_{\text{对照}} \times V_{\text{反应}} \times 100\% \div 0.5\% \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T$$
$$= 46.15 \times (A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}) \div A_{\text{对照}} \div Cpr$$

3. 按细菌细胞数量计算

单位的定义：以波长 660nm 的吸光度下降百分率表示，每 10^4 个细菌在反应体系中每分钟降低 0.5% 碘蓝值为一个酶活性单位。

$$\text{SBE 活性 (U/10}^4\text{)} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}) \div A_{\text{对照}} \times V_{\text{反应}} \times 100\% \div 0.5\% \div (\text{细菌数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div T$$
$$= 46.15 \times (A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}) \div A_{\text{对照}} \div 500 = 0.092 \times (A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}) \div A_{\text{对照}}$$

B. 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

1. 按照样本质量计算

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分钟降低 1% 碘蓝值为一个酶活性单位。

$$\text{SBE 活性 (U/g 质量)} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}) \div A_{\text{对照}} \times V_{\text{反应}} \times 100\% \div 1\% \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div T = 23.08 \times (A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}) \div A_{\text{对照}} \div W$$

2. 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分钟降低 1% 碘蓝值为一个酶活性单位。

$$\text{SBE 活性 (U/mg prot)} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}) \div A_{\text{对照}} \times V_{\text{反应}} \times 100\% \div 1\% \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 23.08 \times (A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}) \div A_{\text{对照}} \div Cpr$$

3. 按细菌细胞数量计算

单位的定义：以波长 660nm 的吸光度下降百分率表示，每 10^4 个细菌在反应体系中每分钟降低 1% 碘蓝值为一个酶活性单位。

$$\text{SBE 活性 (U/10}^4\text{)} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}) \div A_{\text{对照}} \times V_{\text{反应}} \times 100\% \div 1\% \div (\text{细菌数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div T$$

产品说明书

$$=23.08 \times (A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}) \div A_{\text{对照}} \div 500 = 0.046 \times (A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}) \div A_{\text{对照}}$$

$V_{\text{反应}}$: 反应体系体积, 0.3mL; W : 样本质量, g; $V_{\text{提取}}$: 加入提取液体积, 1mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.065mL;
 T : 反应时间, 20min; C_{pr} : 蛋白浓度, mg/mL; 500: 细菌数量, 500 万。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

相关产品:

PMK1155 α -淀粉酶检测试剂盒 (微量法)

PMK1156 β -淀粉酶检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:



$\Delta A_{540 \text{ nm}}$