

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

分光光度法 50 管/24 样

注 意：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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1 mL 玻璃比色皿、研钵、冰、蒸馏水

试剂的组成和配制：

提取液：液体 60mL×1 瓶，4℃保存；

试剂一：液体 20mL×1 瓶，4℃保存；

试剂二：粉剂×2 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 25mL×1 瓶，4℃保存；

试剂四：液体 5mL×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：

试剂名称（μL）	对照管	测定管
95℃水浴 1min 后灭活的粗酶液	250	
粗酶液		250
试剂一	320	320
试剂二	30	30

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

试剂三	500	500
试剂四	40	40

混匀，室温静置 10min，用蒸馏水调零，660nm 处读取各管吸光值。

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℃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。

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

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。