

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
AMHD1-M48	淀粉分支酶(SBE)活性检测试剂盒	48T	微量法
AMHD1-M96		96T	微量法

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 60 mL×1 瓶	液体 110 mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	液体 3 mL×1 瓶	液体 6 mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	粉剂×1 支	粉剂×2 支	4℃保存
反应液的配制：临用前，每支试剂二粉剂加入 3 mL 试剂一，加热煮沸使其完全溶解			
试剂三	液 3 mL×1 瓶	液体 6 mL×1 瓶	4℃保存
试剂四	液体 6 mL×1 瓶	液体 12 mL×1 瓶	4℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：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。

2、细菌/细胞：按照细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 200W，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 5min）；然后 10000g，4℃离心 10min，取上清置于冰上待测。

3、血清（浆）等液体样本：直接测定。

测定步骤

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 660 nm，蒸馏水调零；

2、取 25 μ L 样本煮沸 1min 使其失活备用；

3、操作表

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
混匀后在波长 660nm 处读取吸光度值。		

五、氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 含量计算:

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

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。