



淀粉分支酶(SBE)试剂盒

可见分光光度法

货号: R43953-24S

产品简介:

淀粉分支酶(SBE,EC 2.4.1.18) 是参与支链淀粉合成的关键酶之一, 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。

SBE 可使底物含量减少, 从而降低底物与碘显色剂形成的在660nm 有最大吸收峰的蓝色复合物, 一定时间内吸光度下降的百分率可以反映SBE 酶活性的大小。

试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体30mL×1瓶	4℃保存	
试剂	液体8mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	粉体mg×2支	室温保存	临用前甩几下, 使试剂落入底部, 每支加1.6mL蒸馏水混合, 煮沸至呈现透明溶解状态, 待冷却后使用, 室温保存即可。
试剂三	液体30mL×1瓶	4℃保存	
试剂四	液体1.5mL×1支	4℃保存	

所需的仪器和用品:

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

淀粉分支酶 (SBE) 活性测定:

建议正式实验前选取2个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

称取约0.1g 组织(水分充足可适当增加样本取样质量),加入1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。4℃×12000rpm离心10min, 取上清, 置冰上待测。



【注】:若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取

2、上机检测:

①可见分光光度计预热30min以上,调节波长至660nm,蒸馏水调零。

②试剂一和二可提前于37度水浴锅孵育15-30min。

③在EP管中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	对照管	空白管(仅做一次)
样本	15	15	
蒸馏水		75	15
试剂一	150	150	150
试剂二	75		75
37℃孵育10min,沸水浴5min,流水冷却至室温。			
试剂三	600	600	600
试剂四	30	30	30
混匀,显色10min后,全部澄清液体(若浑浊可离心后取上清测定)转移至1mL玻璃比色皿(光径1cm)中,于660nm处读取吸光值A,△A=A空白-(A测定-A对照)(每个测定管需设一个对照管)。			

结果计算:

1、按照蛋白浓度计算:

酶活定义:以波长660nm的吸光度下降百分率表示,每毫克蛋白每降低1%碘蓝值为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned}\text{SBE 活性(U/mg prot)} &= \Delta A / A_{\text{空白}} \times 100\% \div (V1 \times C_{\text{pr}}) \times D \\ &= 66.67 \times \Delta A / A_{\text{空白}} \div C_{\text{pr}} \times D\end{aligned}$$

2、按照样本鲜重计算:

酶活定义:以波长660nm的吸光度下降百分率表示,每克组织每降低1%碘蓝值为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned}\text{SBE 活性(U/g 鲜重)} &= \Delta A / A_{\text{空白}} \times 100\% \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 66.67 \times \Delta A / A_{\text{空白}} \div W \times D\end{aligned}$$



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 400-666-5481 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: 3008007435@qq.com

V-- 加入提取液体积, 1mL;

V1--- 加入样本体积, 0.015mL;

W---样本质量, g;

D---稀释倍数, 未稀释即为1;

Cpr--- 样本蛋白质浓度, mg/mL, 建议使用本公司的BCA 蛋白含量检测试剂盒。



源叶