CheKine™ 淀粉分支酶（SBE）活性检测试剂盒（微量法）

Cat #: KTB1390 Size: 48 T/48 S 96 T/96 S

	淀粉分支酶（SBE）活性检测试剂盒（微量法）		
REF	**货号：**KTB1390	LOT	**批号：**见产品标签
	适用样本：植物组织、细菌		
	保质期：4℃，避光保存 12 个月		

原理

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。CheKine™ 淀粉分支酶（SBE）活性检测试剂盒（微量法）可检测植物组织、细菌样本中 SBE 活性，其原理是：直链淀粉和碘结合后在 660 nm 有特征吸收值，SBE 使直链淀粉含量减少，从而降低了淀粉-碘复合物在 660 nm 吸收值，一定时间内吸光度下降的百分率可以反映 SBE 活性。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	120 mL	4℃
Assay Buffer	11 mL	22 mL	4℃
Substrate	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃
Chromogen	1.2 mL	2.4 mL	4℃，避光保存

注意：正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或可见分光光度计（能测 660 nm 处的吸光度）
- 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
- 低温离心机、水浴锅、制冰机、恒温箱
- 去离子水
- 匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

Extraction Buffer：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

Assay Buffer：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

Substrate：临用前 96 T 加入 6 mL 去离子水，48 T 加入 3 mL 去离子水，上下颠倒摇晃几次，加热至溶解。溶解后的 Substrate 4℃保存两周，若有沉淀析出，可 70℃加热溶解后使用。

Chromogen：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

样本制备

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。

1. 植物组织：称取约 0.1 g 组织加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴中匀浆。15, 000 g，4℃离心 15 min，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 1 mL Extraction Buffer，冰浴超声波破碎细菌 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），15, 000 g，4℃离心 15 min，取上清，置冰上待测。

注意：如需测定蛋白浓度，推荐使用 Abbkine 货号：KTD3002 的蛋白质定量试剂盒（Bradford 法）进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

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

试剂	对照管（μL）	测定管（μL）
煮沸 1 min 后灭活的样本	65	0
样本	0	65
Assay Buffer	85	85
Substrate	25	25
混匀，37℃准确保温 20 min，置沸水浴中 5 min 终止反应（盖紧防止水分散失），冷却至室温		
去离子水	115	115
Chromogen	10	10

3. 混匀，室温静置 5 min，取 200 μL 至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，660 nm 处读取各管吸光值，分别记为 $A_{对照}$，$A_{测定}$，计算 $\Delta A=A_{对照}-A_{测定}$。

注意：每个测定管需设个一个对照管，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 1 min 处理。Substrate 使用中如有沉淀，务必 70℃水浴溶解后使用。如果样本的 ΔA 小于 0.1，可适当增大样本量，如果样本的 ΔA 大于 1.0，样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释，再进行实验，乘以最终的稀释倍数。

结果计算

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

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 660 nm 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。

SBE 活性(U/g 质量)=$\Delta A\div A_{对照}\times V_{反总}\times 100\%\div 0.5\%\div(W\div V_{提取}\times V_{样})\div T$**$=46.15\times\Delta A\div A_{对照}\div W$**

2. 按照蛋白浓度计算

单位的定义：以波长 660 nm 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。

SBE 活性(U/mg prot)=$\Delta A\div A_{对照}\times V_{反总}\times 100\%\div 0.5\%\div(Cpr\times V_{样})\div T$**$=46.15\times\Delta A\div A_{对照}\div Cpr$**

3. 按细菌数量计算

单位的定义：以波长 660 nm 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。

Abbkine, Inc • • www.abbkine.com
Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

SBE 活性(U/10^4)=ΔA÷$A_{对照}$×$V_{反总}$×100%÷0.5%÷(细菌数量÷$V_{提取}$×$V_{样}$)÷T=**46.15×ΔA÷$A_{对照}$÷500**

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 660 nm 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。

SBE 活性(U/g 质量)=ΔA÷$A_{对照}$×$V_{反总}$×100%÷1%÷(W÷$V_{提取}$×$V_{样}$)÷T=**23.075×ΔA÷$A_{对照}$÷W**

2. 按照蛋白浓度计算

单位的定义：以波长 660 nm 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。

SBE 活性(U/mg prot)=ΔA÷$A_{对照}$×$V_{反总}$×100%÷1%÷(Cpr×$V_{样}$)÷T=**23.075×ΔA÷$A_{对照}$÷Cpr**

3. 按细菌细胞数量计算

单位的定义：以波长 660 nm 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。

SBE 活性(U/10^4)=ΔA÷$A_{对照}$×$V_{反总}$×100%÷1%÷(细菌数量÷$V_{提取}$×$V_{样}$)÷T=**23.075×ΔA÷$A_{对照}$÷500**

$V_{反总}$：反应体系体积，0.3 mL；W：样本质量，g；$V_{提取}$：加入 Extraction Buffer 体积，1 mL；$V_{样}$：加入样本体积，0.065 mL；T：反应时间，20 min；Cpr：蛋白浓度，mg/mL；500：细菌总数，500 万。

结果展示

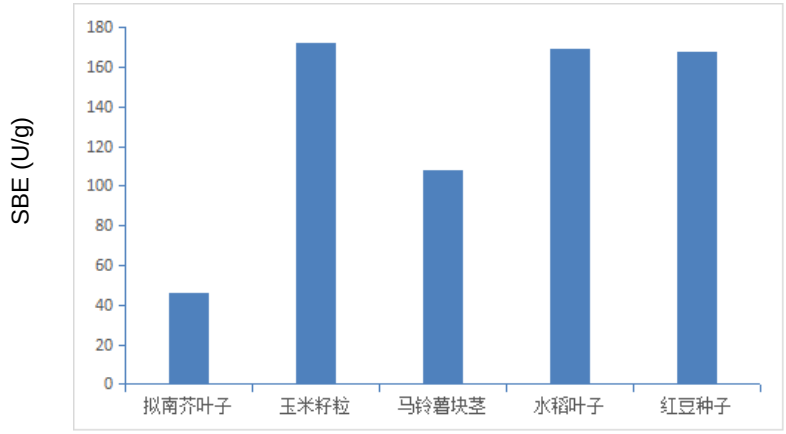


Figure 1. 拟南芥叶子、玉米籽粒、马铃薯块茎、水稻叶子和红豆种子中的 SBE 活性。

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1370	CheKine™ α-淀粉酶活性检测试剂盒（微量法）
KTB1380	CheKine™ β-淀粉酶活性检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.