

CheKine™ 淀粉脱分支酶（SBE）试剂盒（微量法）

Cat #: KTB3034

Size: 48 T/48 S 96 T/96 S

	淀粉脱分支酶（SBE）试剂盒（微量法）		
REF	货号：KTB3034	LOT	批号：见产品标签
	检测范围：0.05-0.8 mg/mL		灵敏度：0.05 mg/mL
	适用样本：动植物组织		
	保质期：4℃，避光保存 6 个月		

原理

淀粉脱分支酶（SBE）能够专一性地裂解支链淀粉的 α -1, 6 糖苷键，产生线性的葡萄糖链，在调整支链淀粉分子的链长方面有重要的作用。CheKine™ 淀粉脱分支酶（SBE）试剂盒（微量法）提供了一种简单、方便、快速的淀粉脱分支酶活性检测方法，适用于动植物组织样本。其原理是采用 3, 5-二硝基水杨酸法测定 SBE 催化支链淀粉产生的还原糖，通过测定还原糖含量的变化来计算 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℃
Reagent I	15 mL	30 mL	4℃
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃
Reagent III	12 mL	24 mL	4℃
Reagent IV	40 mL	80 mL	4℃，避光保存
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃

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 540 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、1.5 mL 离心管、2 mL 离心管
- 水浴锅、低温离心机
- 去离子水

试剂准备

Extraction Buffer: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃保存。

Reagent I: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃保存。

Working Reagent II: 临用前配制；48 T 试剂盒向 Reagent II 中加入 10 mL 去离子水；96 T 试剂盒向 Reagent II 中加入 20 mL 去离子水，充分溶解待用；用不完的试剂 4℃保存 2 周。

Reagent III: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃保存。

Reagent IV: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃避光保存。

注意: Reagent IV有一定的刺激性，建议在使用过程中做好个人防护。

Standard: 临用前配制；加入 1 mL 去离子水，充分溶解，即 10 mg/mL 葡萄糖标准品；用不完的试剂 4℃保存 2 周。

1 mg/mL 葡萄糖标准品: 取 200 µL 10 mg/mL 葡萄糖标准品加 1,800 µL 去离子水配制成 1 mg/mL 葡萄糖标准品；使用 1 mg/mL 葡萄糖标准品，按照下表所示，进一步稀释标准品：

序号	Standard 体积 (µL)	去离子水体积 (µL)	浓度 (mg/mL)
Std.1	400 µL of 1 mg/mL Standard	100	0.8
Std.2	300 µL of 1 mg/mL Standard	200	0.6
Std.3	250 µL of 1 mg/mL Standard	250	0.5
Std.4	200 µL of 1 mg/mL Standard	300	0.4
Std.5	150 µL of 1 mg/mL Standard	350	0.3
Std.6	100 µL of 1 mg/mL Standard	400	0.2
Std.7	50 µL of 1 mg/mL Standard	450	0.1
Std.8	25 µL of 1 mg/mL Standard	475	0.05

注意: 每次实验都要做一次标准品检测；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

样本制备

注意: 建议使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80℃下保存一个月。

称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL Extraction Buffer，进行冰浴匀浆。然后 15,000 g，4℃离心 10 min，取上清，置于冰上待测。

实验步骤

- 酶标仪或可见光分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 540 nm，可见光分光光度计用去离子水调零。
- 根据实验用量，吸取部分样本上清置于 95℃水浴 5 min 灭活（盖紧，以防止水分散失），室温冷却后 8,000 g，4℃离心 5 min，取上清待测。
- 操作表（下述操作在 1.5 mL 离心管中操作）：

试剂	测定管 (µL)	对照管 (µL)	标准管 (µL)	空白管 (µL)
样本上清	100	0	0	0
灭活样本	0	100	0	0
Reagent I	0	100	0	0
Working Reagent II	100	0	0	0



混匀，37℃水浴 2 h

Reagent III	100	100	0	0
Standard	0	0	300	0
去离子水	0	0	0	300
Reagent IV	300	300	300	300

4. 混匀，95℃水浴 5 min（盖紧，以防止水分散失），流水冷却至室温，8,000 g，4℃离心 5 min，取 200 μL 上清至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，记录 540 nm 处吸光值。测定管记为 $A_{\text{测定}}$ ，对照管记为 $A_{\text{对照}}$ ，标准管记为 $A_{\text{标准}}$ ，空白管记为 $A_{\text{空白}}$ 。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

注意：空白孔和标准孔只需做 1-2 次，每个测定孔均需设置一个对照孔。实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.05 mg/mL 的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 0.8 mg/mL 的 $\Delta A_{\text{标准}}$ ，上清液可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

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。

1. 标准曲线的绘制

以标准溶液浓度为 x 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 代入方程得到 x (mg/mL)。

2. SBE 活性的计算：

酶活单位定义：每 g 组织每小时催化产生 1 mg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SBE (U/g 鲜重)} = x \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times F = 1.5 \times x \div W \times F$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.3 mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.1 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入 Extraction Buffer 体积，1 mL；T：反应时间，2 h；W：样本质量，g；F：稀释倍数。

结果展示

以下数据仅供参考，实验者需根据自己的实验对样品进行检测。

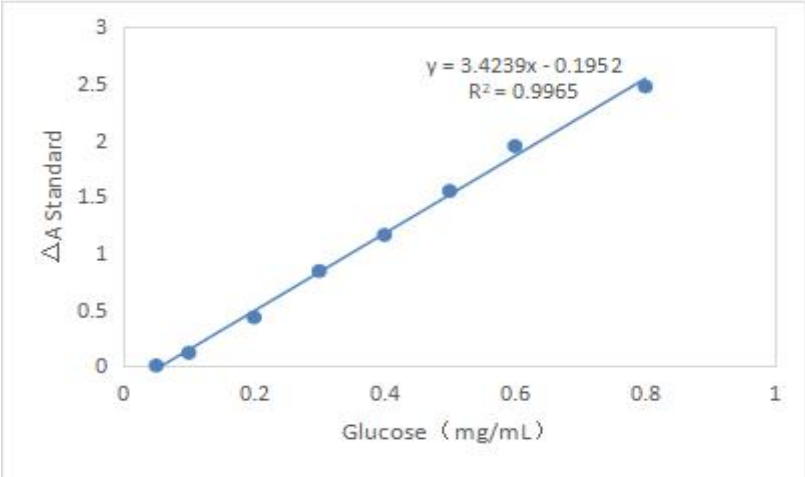


Figure 1. 葡萄糖标准曲线

实验实例：

取 0.105 g 拟南芥，按上述步骤检测，使用 96 孔板测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = 0.092 - 0.082 = 0.01$ ，代入方程得 $x = 0.06$ ，按样本鲜重计算活性得：

$$\text{SBE (U/g 鲜重)} = 1.5 \times 0.06 \div 0.105 = 0.857 \text{ U/g}。$$



相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1371	CheKine™ 淀粉含量检测试剂盒（微量法）
KTB1370	CheKine™ α-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。

