(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！)

产品货号：E-BC-K1204-M

产品规格：48T(24 samples)/96T(48 samples)

检测仪器：酶标仪(650-670 nm)

Elabscience®淀粉分支酶（SBE）比色法测试盒

Starch Branching Enzyme (SBE) Activity Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100
邮箱：biochemical@elabscience.cn
网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本测试盒适用于检测植物组织中淀粉分支酶（SBE）的活力。

检测原理

淀粉分支酶(Starch Branching Enzyme, SBE)可以催化直链淀粉(Amylose)变为支链淀粉（Amylopectin)。直链淀粉和碘结合后在 660 nm 有特征光吸收，SBE 使直链淀粉含量减少，从而降低淀粉-碘复合物在 660 nm 的光吸收值，一定时间内吸光度下降的百分率可以反映 SBE 的活性。

本试剂盒检测植物组织样本时，可测定总蛋白浓度，推荐使用考马斯亮蓝法(货号：E-BC-K168-M)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 (Extraction Solution)	50 mL×1 瓶	50 mL×2 瓶	2-8°C避光保存6个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8°C避光保存6个月
试剂三 (Reagent 3)	终止剂 (Stop Solution)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8°C避光保存6个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 (Chromogenic Agent)	3 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	2-8°C避光保存6个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(650-670 nm，最佳检测波长 660 nm)，水浴锅。

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25°C。

② 试剂二工作液的配制：

取一瓶试剂二，向其中加入3 mL双蒸水，95°C水浴加热至完全溶解。未使用完的试剂可2-8°C保存1个月，每次使用前需95°C水浴10 min。

样本准备

① 样本处理

组织样本：按照组织样本质量(g)：试剂一体积(mL)以1:9的比例(如0.1 g组织样本，加入0.9 mL试剂一)，于4°C条件下进行机械匀浆。4°C，10000 × g离心10 min，取上清置于冰盒上待用，制备好的组织上清在当天检测为宜。可留取部分上清用于总蛋白浓度测定。

对照样本：取0.3 mL待测样本于新的EP管中，沸水浴5 min，流水冷却，作为对照样本(样本冷却后可能会有沉淀析出，无需离心，混匀即可)。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：1.5-15.0 U/g，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%玉米组织	2-5	10%花生组织	5-15
10%红豆组织	5-10	10%绿豆组织	5-10

注：稀释液为试剂一。

实验关键点

显色产物久置会沉降，建议一次性检测不超过 20 管，显色后立即测定。

操作步骤

① 测定管：取 100 μL 待测样本加入相应的测定管中。

对照管：取 100 μL 对照样本加入相应的对照管中。

② 向步骤①中的各管加入 50 μL 试剂二工作液。

③ 混匀，37°C 恒温箱中准确孵育 30 min 后取出，95°C 水浴 5 min，流水冷却。

④ 向③中各管加入 100 μL 试剂三。

⑤ 向④中各管加入 50 μL 试剂四，立即混匀。

⑥ 取 200 μL⑤中各管液体加入酶标板孔，660 nm 测定各孔 OD 值。

操作表

	测定管	**对照管**
待测样本(μL)	100	--
对照样本(μL)	--	100
试剂二工作液(μL)	50	50
混匀，37°C 恒温箱中准确孵育 30 min 后取出，95°C 水浴 5 min，流水冷却		
试剂三(μL)	100	100
试剂四(μL)	50	50
立即混匀，取 200 μL 加入酶标板孔，660 nm 测定各孔 OD 值		

本试剂盒检测植物组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用考马斯亮蓝法(货号：E-BC-K168-M)。

结果计算

① 按样本质量计算：

定义：在 37°C条件下，以波长 660 nm 的吸光度下降百分率表示，每 g 组织样本在反应体系中每分钟降低 1% 碘蓝值定义为一个酶活单位。

$$\text{SBE 活力 (U/g wet tissue)} = (A_{对照} - A_{测定}) \div A_{对照} \times 100\% \div 1\% \div T \times f \div \frac{m}{V}$$

② 按蛋白浓度计算：

定义：在 37°C条件下，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% 碘蓝值定义为一个酶活单位。

$$\text{SBE 活力 (U/mgprot)} = (A_{对照} - A_{测定}) \div A_{对照} \times 100\% \div 1\% \div T \times f \div C_{pr}$$

备注：

$A_{对照}$：对照孔的 OD 值

$A_{测定}$：测定孔的 OD 值

T：反应时间，30 min

f：加入检测体系前样本的稀释倍数

m：待测样本的质量，g

V：加入试剂一的体积，mL

C_{pr}：待测样本的蛋白质浓度，mgprot/mL

附录1 关键数据

技术参数

检测范围	1.5-15.0 U/g wet tissue	**批间差**	2.2-4.6%
灵敏度	1.5 U/g wet tissue	**批内差**	3.3-4.8%

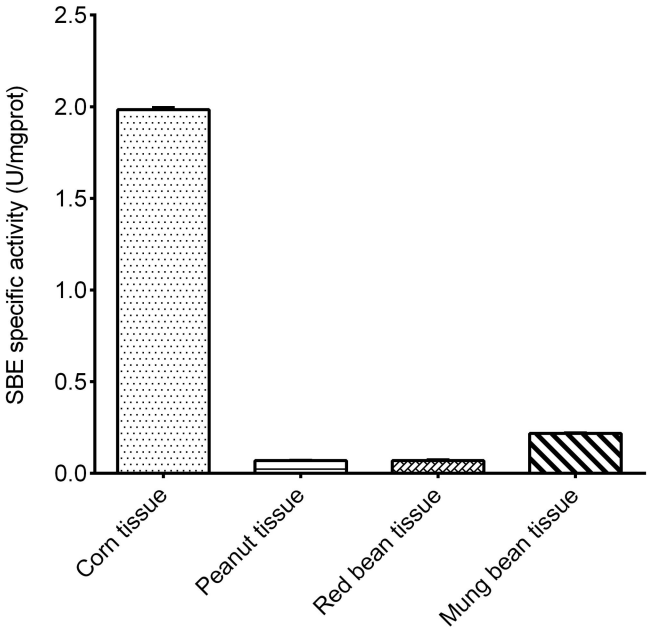
附录2 实例分析

例如玉米组织(数据仅供参考)：

将10%玉米组织匀浆上清稀释2倍作为待测样本，取100 μL待测样本及对照样本进行检测，结果如下：测定孔OD值为0.543，对照孔OD值为0.811，$\Delta A = A_{对照} - A_{测定} = 0.811 - 0.543 = 0.268$，10%玉米组织匀浆的蛋白含量为1.11 mgprot/mL，计算结果为：

$$\text{SBE活力 (U/mgprot)} = (0.811 - 0.543) \div 0.811 \times 100\% \div 1\% \div 30 \times 2 \div 1.11 = 1.98 \text{ U/mgprot}$$

按照说明书操作，测定玉米组织(稀释2倍，10%玉米组织匀浆蛋白含量为1.11 mgprot/mL，加样量100 μL)、花生组织(稀释5倍，10%花生组织匀浆蛋白含量为12.44 mgprot/mL，加样量100 μL)、红豆组织(稀释5倍，10%红豆组织匀浆蛋白含量为11.16 mgprot/mL，加样量100 μL)、绿豆组织(稀释5倍，10%绿豆组织匀浆蛋白含量为11.29 mgprot/mL，加样量100 μL)中淀粉分支酶(SBE)的活力(如下图)：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
对照管不显色或显色很浅	样本蛋白浓度过高	增加稀释倍数
ΔA 值过低	样本本身 SBE 活力过低	减小稀释倍数，延长反应时间

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。