

## 蔗糖合成酶（SS）活性检测试剂盒说明书

微量法

货号：BC0585

规格：100T/48S

**产品内容：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。**

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 50 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 2.5 mL×1 瓶	-20℃保存
试剂二	粉剂 10 mg×1 支	2-8℃保存
试剂三	液体 2 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 25 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	液体 6 mL×1 瓶	2-8℃保存

溶液的配制：

试剂二：临用前加 1 mL 水，配制成 10 mg/mL 蔗糖溶液，再将其用蒸馏水稀释为 500 $\mu$ g/mL 备用。

产品说明：

蔗糖是源（叶片等）光合产物向“库”器官运输的主要形态。SS（EC 2.4.1.13）催化植物体内游离果糖和葡萄糖合成蔗糖。

SS 催化游离果糖与葡萄糖供体 UDPG 反应生成蔗糖，蔗糖与间苯二酚反应可呈现颜色变化，在 480nm 下有特征吸收峰，酶活力大小与颜色的深浅成正比。

**注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、离心机、移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、冰。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

二、测定步骤

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 480nm，蒸馏水调零。

2、样本测定（在 1.5mL EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂名称（ $\mu$ L）	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	10	10		
蒸馏水		45	45	55
试剂一	45			

试剂二			10	
混匀, 25°C准确水浴10min				
试剂三	15	15	15	15
沸水浴中煮沸10min左右(盖紧, 以防止水分散失), 冷却				
试剂四	210	210	210	210
试剂五	60	60	60	60

混匀, 80°C水浴保温 20min, 冷却后, 12000rpm 常温离心 10min。吸取 200 $\mu$ L 上清液于微量玻璃比色皿或者 96 孔板中, 在 480nm 下测定各管吸光值(标准管和空白管只做 1-2 管, 每个测定管需要设定一个对照管)。

计算  $\Delta A_{测} = A_{测定管} - A_{对照管}$ ,  $\Delta A_{标} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。

### 三、SS 活力单位的计算

#### 1. 按照蛋白浓度计算

单位定义: 每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1 $\mu$ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

SS活性(U/mg prot) =  $(C_{标准管} \times V_1 \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \div (V_1 \times C_{pr}) \div T = 50 \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标} \div C_{pr}$

#### 2. 按照样本质量计算

单位定义: 每 g 组织每分钟催化产生 1 $\mu$ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

SS活性(U/g 质量) =  $(C_{标准管} \times V_1 \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \div (W \times V_1 \div V_2) \div T = 50 \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标} \div W$

C标准管: 标准管浓度, 500 $\mu$ g/mL; V1: 加入反应体系中样本体积, 0.01mL; V2: 加入提取液体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本鲜重, g; T: 反应时间, 10min。

#### 注意事项:

尽量在30min内完成测定。

#### 参考文献:

[1] Schrader S, Sauter J J. Seasonal changes of sucrose-phosphate synthase and sucrose synthase activities in poplar wood (*Populus*  $\times$  *canadensis* Moench 'robusta') and their possible role in carbohydrate metabolism[J]. Journal of Plant Physiology, 2002, 159(8): 833-843.

[2] Nomura T, Akazawa T. Enzymic mechanism of starch synthesis in ripening rice grains: VII. Purification and enzymic properties of sucrose synthetase[J]. Archives of biochemistry and biophysics, 1973, 156(2): 644-652.

[3] Pressey R., Potato sucrose synthetase: purification, properties, and changes in activity associated with maturation[J]. Plant physiology, 1969, 44(5): 759-764.

#### 相关系列产品:

- BC0600/BC0605 蔗糖磷酸合成酶 (SPS) 活性检测试剂盒
- BC2460/BC2465 植物蔗糖含量检测试剂盒
- BC0560/BC0565 酸性转化酶 (AI) 活性检测试剂盒
- BC0570/BC0575 中性转化酶 (NI) 活性检测试剂盒
- BC4310/BC4315 蔗糖合成酶 (分解方向, SS-I) 活性检测试剂盒
- BC4320/BC4325 细胞壁结合酸性转化酶 (CWI) 活性检测试剂盒