

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0507

Size: 100T/48S

蔗糖合成酶（合成方向；SS）检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义：

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。

二、测定原理：

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。

三、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、微量石英比色皿/96孔板、研钵、冰。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 2.5mL×1 瓶	-20℃保存	
试剂二	1000 μg/mL 蔗糖溶液 10mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 2mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	液体 25mL×1 瓶	4℃保存	
试剂五	液体 6mL×1 瓶	4℃保存	

五、样品测定的准备：

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。

六、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 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	10	10		
蒸馏水		45	45	55
试剂二			10	
试剂一	45			
混匀，25℃ 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，沸水浴 30min，冷却后，取 200 μL 至微量石英比色皿或 96 孔板中，480nm 下测定各管吸光值。标准管和空白管只要做一管。每个测定管需要设一个对照管。

七、SS 活性计算

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 μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

SS 活性 (μg/min/mg prot) = $\{C_{\text{标准管}} \times V_1 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \div (V_1 \times C_{\text{pr}}) \div T = 100 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \div C_{\text{pr}}$

2、按照样本鲜重计算

单位定义：每g组织每分钟催化产生1 μg蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SS 活性} (\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = \{C \text{ 标准管} \times V1 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div (W \times V1 \div V2) \div T = 100 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W$$

C 标准管：标准管浓度，1000 μg/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。