

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-S0791

Size: 50T/24S

蔗糖合成酶（合成方向；SS）检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*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、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1 mL 玻璃比色皿、研钵、冰、蒸馏水。

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 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 10mL×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 5mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	液体 40mL×1 瓶	4℃保存	
试剂五	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	

五、操作步骤：

● 测定样品提取：

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。

● 测定操作表：

按下表操作：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	30	30		
蒸馏水		150	150	180
试剂一	150			
试剂二			30	
混匀, 25℃准确水浴 10min				
试剂三	50	50	50	50
沸水浴中煮沸 10min 左右 (盖紧, 以防止水分散失), 冷却				
试剂四	700	700	700	700
试剂五	200	200	200	200

混匀, 沸水浴 30min, 冷却后, 在 480nm 下测定各管吸光值。标准管和测定管只要做一管。每个测定管需要设定一个对照管。

六、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 1μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

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

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 μ g 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 μ g/mL；V1：加入反应体系中样本体积，0.03mL；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。