

上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

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

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。

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。

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

试剂的组成和配制

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	-

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。

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（ μ 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 μ L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。

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 μ g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，0.01mL；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。