

## 蔗糖合成酶（SS）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHB8-M48	蔗糖合成酶（SS）活性检测试剂盒	48T	微量法

### 一、测定意义

蔗糖是重要的光合产物，是植物体内运输的主要物质，是糖类的暂存形式之一。蔗糖合成酶以游离果糖为受体。蔗糖合成酶看作是蔗糖分解或形成核苷酸葡萄糖的系统。

### 二、测定原理

蔗糖合成酶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、试剂组成

试剂名称	规格（48T）	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 3 mL×1 瓶	-20℃保存
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 35 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 12 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂 10 mg×2 支	2-8℃保存

标准品（10mg/mL）的配制：临用前取一支粉剂（10mg）中加入1mL双蒸水，混匀，充分溶解，现用现配。

### 四、操作步骤

#### 样本前处理

植物组织提取液的制备：取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5～10 的比例（建议称重 0.1g，加入提取液 1mL），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎机冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

#### 测定步骤

- 1、可见分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，波长调至 480nm，蒸馏水调零；
- 2、取上清液90μL 在100℃水中煮沸10min；
- 3、将10mg/mL标准品用双蒸水依次稀释至100、80、60、40、20μg/mL，备用；
- 4、样本测定（在 1.5mL EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
样本(μL)	20			

煮沸的样本( $\mu\text{L}$ )		20		
蒸馏水( $\mu\text{L}$ )			20	
标准品( $\mu\text{L}$ )				20
试剂一( $\mu\text{L}$ )	20	20	20	20
30°水浴准确反应 30min				
试剂二( $\mu\text{L}$ )	40	40	40	40
沸水浴中煮沸 10min (盖紧, 以防止水分散失), 冷却				
试剂三( $\mu\text{L}$ )	300	300	300	300
试剂四( $\mu\text{L}$ )	100	100	100	100
混匀, 80°C 水浴保温 20min, 冷却后, 12000rpm 常温离心 10min。取 200 $\mu\text{L}$ 上清液在 480nm 下测定各管吸光值 (标准管和空白管各只要做 1-2 管, 每个测定管需要设定一个对照管)。				
计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ , $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。				

## 五、蔗糖合成酶活性的计算

1、标准曲线的绘制: 根据标准管测定值和浓度做标准曲线,  $y=kx+b$ ,

$y$  为标准品浓度,  $\mu\text{g/mL}$ ;  $x$  为标准管吸光度  $\Delta A_{\text{标}}$ 。

2、计算样本蔗糖含量, 即将  $\Delta A_{\text{测}}$  带入回归方程中 ( $x$ ), 计算  $y$  值 ( $\mu\text{g/mL}$ )。

(1) 按样本蛋白浓度计算:

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

$$SS (\text{U/mg prot}) = y \times V_{\text{样}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.5 \times y \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本质量计算:

单位的定义: 每 g 每分钟催化产生 1 $\mu\text{g}$  蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$SS (\text{U/g 质量}) = y \times V_{\text{样}} \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.5 \times y \div W$$

$V_{\text{样}}$ : 反应体系中加入的样本体积, 20 $\mu\text{L}$ =0.02mL;  $V_{\text{样总}}$ : 加入的提取液体积, 1mL;  $T$ :

反应时间, 30min;  $C_{\text{pr}}$ : 蛋白质浓度, mg/mL;  $W$ : 样本质量,

## 六、注意事项

- 1、试剂三有刺激性味道, 注意防护;
- 2、沸水浴时候, 注意离心管的盖子一定需要盖紧。最好是使用带旋盖的管子;
- 3、不同样本蔗糖合成酶活性差异较大, 取 2-3 个样本先做预实验。
- 4、沸水浴煮沸时间一定保证足够。

## 七、公司介绍

陌凡生物科技有限公司是一家专业从事转基因检测、食品安全以及动植物疫病检测为核心业务的生物科技公司。能够为客户提供动植物疫病检测试剂、小分子抗原抗体、植物激素、植物抗体、重组蛋白等优质产品。自主研发了涵盖分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物医学等领域的各种试剂盒。产品覆盖面广, 品质可靠。