

蔗糖合成酶（SS）检测试剂盒

可见分光光度法

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

货号：BC0580

规格：50T/24S

产品内容：

提取液：液体30mL×1瓶，4℃保存；

试剂一：液体4mL×1瓶，-20℃保存；

试剂二：1000μg/mL蔗糖溶液1mL×1支，4℃保存；

试剂三：液体3mL×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；

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。

试验中所需的仪器和试剂：

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

操作步骤：

一、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。

二、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。

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。

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

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。

$$\text{SS活性}(\mu\text{g}/\text{min} / \text{g鲜重}) = \{C_{\text{标准管}} \times V_1 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}})\} \\ \div (W \times V_1 \div V_2) \div T = 100 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \div W$$

C标准管：标准管浓度，1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；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。

3、尽量在30min内完成测定。