

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：粉剂 10mg×1 支，4℃保存，临用前加 1mL 水，配制成 10mg/mL 蔗糖溶液，再将其用蒸馏水稀释为 500μg/mL 备用；

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：

1、可见分光光度计预热 30min 以上，波长调至 480nm，蒸馏水调零。

2、样本测定（在 1.5mL 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 | 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。标准管和空白管各只要做一管。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 1 μ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

SS 活性(μ g/min/mg prot)= { C 标准管 \times V1 \times (A 测定管-A 对照管) \div (A 标准管-A 空白管)}

\div (V1 \times Cpr) \div T=50 \times (A 测定管-A 对照管) \div (A 标准管-A 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。

SS 活性(μ g/min /g 鲜重)= { C 标准管 \times V1 \times (A 测定管-A 对照管) \div (A 标准管-A 空白管)}

\div (W \times V1 \div V2) \div T=50 \times (A 测定管-A 对照管) \div (A 标准管-A 空白管) \div W

C 标准管：标准管浓度，500 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。

3、尽量在 30min 内完成测定。