

Sucrose Synthetase Activity Assay Kit (Synthetic Direction SS-II)

蔗糖合成酶活性检测试剂盒(合成方向 SS-II) 微板法

| 产品编号 | 产品名称 | 规格 |
|---------|-----------------------------|-----|
| BL1417B | 蔗糖合成酶活性检测试剂盒(合成方向SS-II) 微板法 | 48T |

产品简介:

蔗糖是叶片等光合产物向各器官运输的主要形态，它不仅是重要的光合产物，也是植物体内运输的主要物质、碳水化合物的贮存形式之一。蔗糖合成酶(Sucrose Synthase, EC 2.4.1.13)是双向反应酶，既可催化蔗糖合成又可催化蔗糖分解，是糖代谢过程的关键酶之一。研究其合成方向 SS-II 的活性对于植物蔗糖合成具有重要意义。

SS-II 催化游离果糖与葡萄糖供体 UDPG 反应生成蔗糖，采用蔗糖与间苯二酚反应生成的有颜色产物在 480nm 下有特征吸收峰，酶活力大小与颜色深浅成正比。

产品组成:

| 试剂名称 | 规格 | 保存要求 | 备注 |
|------|--------------|----------|--|
| 提取液 | 液体 60mL×1 瓶 | 4°C 保存 | |
| 试剂一 | 液体 2.1mL×1 支 | -20°C 保存 | |
| 试剂二 | 液体 1mL×1 支 | 4°C 保存 | |
| 试剂三 | 液体 20mL×1 支 | 4°C 保存 | |
| 试剂四 | 粉末×2 支 | 4°C 保存 | 临用前甩几下使粉剂落入底部，每瓶加入 4mL 蒸馏水充分溶解，现配现用，一周内用完。 |
| 标准品 | 粉末×1 支 | 4°C 保存 | 若重新做标曲，则用到该试剂。 |

使用方法:

建议正式实验前，选取 2 个样本做预测定，了解实验样品情况，熟悉流程，避免样本和试剂浪费。

一、样本准备:

1. 组织样本:

- (a) 称取约 0.1g 组织（水分充足的样本可取 0.5g），加入 1mL 提取液，在 4°C 或冰浴进行匀浆(或使用各类常见电动匀浆器)；
- (b) 12,000rpm，4°C 室温离心 10min，取上清液备用。

【注】：若样本含糖量高，可引起 A 对照值较大如超过 1.6，即检测背景值过高会影响检测，可在样本制备过程中增加除糖步骤：取约 0.1g 组织（水分充足的样本可取 0.5g），加入 1mL 经预冷的 95%乙醇冰浴匀浆，4°C 放置 10min；12,000rpm，4°C 离心 5min；弃上清，留沉淀，向沉淀中加入经预冷的 80%乙醇混匀，4°C 放置 5min；12,000rpm，4°C 离心 5min；弃上清，留沉淀。再向沉淀中加入 1mL 经预冷提取液涡旋混匀，4°C 放置 10min；12,000rpm，4°C 离心 10min；留上清，弃沉淀。上清液置冰上待测。

2. 液体样本：直接测定。若浑浊，离心后取上清检测。

二、样品测定:

1. 酶标仪预热 30min，调节波长到 480 nm。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



2. 在离心管中依次加入：

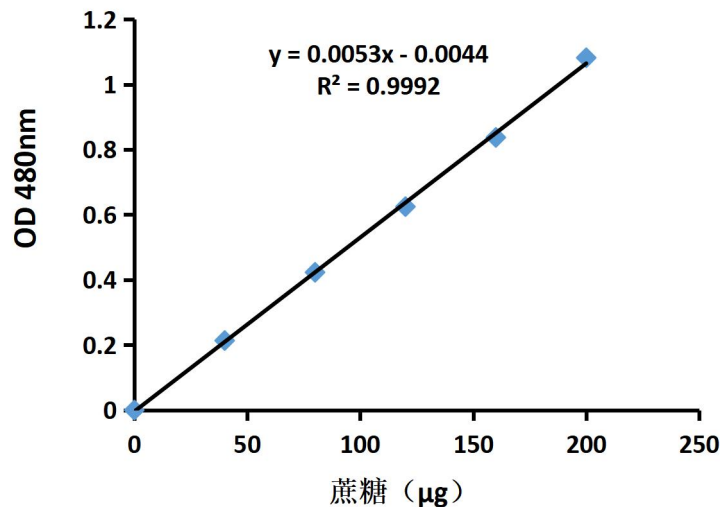
| 试剂名称 (μL) | 测定管 | 对照管 |
|--|-----|-----|
| 试剂一 | 40 | - |
| 蒸馏水 | - | 40 |
| 样本 | 20 | 20 |
| 37°C准确水浴 20min 后 | | |
| 试剂二 | 10 | 10 |
| 试剂二需直接加到反应液里面，且务必混匀（可用枪头吸打），95°C水浴中煮沸 10min（可用封口膜缠紧，防止水分散失），冷却至室温。 | | |
| 试剂三 | 200 | 200 |
| 试剂四 | 60 | 60 |
| 混匀，95°C水浴 20min，冷却后，取 200μL 至 96 孔板中，480nm 下测定。ΔA=A 测定管-A 对照管（每个测定管需设一个对照管）。 | | |

【注】：1. 若ΔA 值过小如在零附近徘徊，可增加样本的加样体积 V1（如 40μL，则蒸馏水相应减少）或增加样本取样量 W（如增至 0.2g），或者延长 37°C水浴时间 T（如 40min 或更长），相应的变量重新代入计算公式计算。

2. 若 A 测定的值大于 1.8，则可对加入比色皿前的液体用蒸馏水稀释，则稀释倍数 D 需代入计算公式计算。

三、结果计算

1. 标准曲线：y = 0.0053x - 0.0044；x 为蔗糖标准品质量（μg），y 为ΔA。



2. 按照蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{SS-II活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0044) \div 0.0053] \div (V1 \times Cpr) \div T \\ &= 471.7 \times (\Delta A + 0.0044) \div Cpr \end{aligned}$$

3. 按照样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每分钟催化产生 1μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{SS-II活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0044) \div 0.0053] \div (W \times V1 \div V) \div T \\ &= 471.7 \times (\Delta A + 0.0044) \div W \end{aligned}$$

4. 按照液体体积计算：

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



单位定义：每毫升液体每分钟催化产生 1 μ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SS-II活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mL})=[(\Delta\text{A}+0.0044)\div 0.0053]\div V1\div T=471.7\times(\Delta\text{A}+0.0044)$$

V---加入提取液体积, 1 mL

T---反应时间, 20 min

D---稀释倍数, 未稀释即为 1

V1---加入样本体积, 0.02mL

W---样本质量, g

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（10mg/mL）：向标准品离心管里面加入 1mL 蒸馏水（母液需在两天内用且-20 $^{\circ}$ C保存）。
- 2 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 2, 4, 6, 8, 10. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。

注意事项：

- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

-20 $^{\circ}$ C保存六个月。

