

蔗糖合成酶(SS)检测试剂盒说明书

(货号: ADS-F-ZT013 分光法 48 样)

有效期: 3 个月

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、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、盐酸

试剂的组成和配制

提取液: 液体 60mL×1 瓶, 4℃ 保存;

试剂一: 液体 10mL×1 瓶, -20℃ 保存;

试剂二: 1mg/mL 蔗糖溶液 10mL×1 瓶, 4℃ 保存;

试剂三: 液体 5mL×1 瓶, 4℃ 保存

试剂四: 80%盐酸 (V:V), 自备;

试剂五: 液体 10mL×1 瓶, 4℃ 保存;

样品测定的准备:

称取约 0.1g 组织加入 1mL 提取液,冰浴中匀浆。8000g, 4℃ 下离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定步骤

| 试剂名称 (μL) | 测定管 | 标准管 |
|-----------------------------------|-----|-----|
| 试剂一 | 150 | 150 |
| 样本 | 30 | |
| 试剂二 | | 30 |
| 混匀, 25℃ 准确水浴 10min | | |
| 试剂三 | 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 |
| 试剂五 | 200 | 200 |

混匀, 80℃ 水浴保温 10min, 冷却后, 以蒸馏水调零, 480nm 下测定各管吸光值。

SS 活性计算

1、按照蛋白浓度计算

单位定义: 每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生 1μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SS 活性 (U/mg prot)} = \frac{\text{C 标准管} \times \text{A 测定管}}{\text{A 标准管} \times \text{T}} \times \text{Cpr}$$

$$= 100 \times \frac{\text{A 测定管}}{\text{A 标准管}} \times \text{Cpr}$$

2、按照样本鲜重计算

单位定义: 每 g 组织在反应体系中每分钟催化产生 1μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SS 活性 (U/g 鲜重)} = \frac{\text{C 标准管} \times \text{A 测定管}}{\text{A 标准管} \times \text{T}} \times (\text{W} \div \text{V 总})$$

$$= 100 \times \frac{\text{A 测定管}}{\text{A 标准管}} \div \text{W}$$

C 标准管：标准管浓度，1000ug/mL； V 样总：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。

