

## 蔗糖合成酶(SS)检测试剂盒说明书

(货号: ADS-W-ZT013-48 微板法 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/酶标仪、水浴锅、离心机、移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、冰、盐酸

### 试剂的组成和配制

提取液: 液体 50mL×1 瓶, 4℃ 保存;

试剂一: 液体 2.5mL×1 瓶, -20℃ 保存;

试剂二: 1mg/mL 蔗糖溶液 5mL×1 瓶, 4℃ 保存;

试剂三: 液体 1mL×1 瓶, 4℃ 保存

试剂四: 80%盐酸 (V:V), 自备;

试剂五: 液体 3mL×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,冰浴匀浆。8000g, 4℃ 离心 10min, 取上清置冰上待测。

### 测定步骤

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 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	标准管
试剂一	45	45
样本	10	
试剂二		10

混匀, 25℃ 准确水浴 10min

试剂三	15	15
-----	----	----

沸水浴中煮沸 10min 左右 (盖紧, 以防止水分散失), 冷却

试剂四	210	210
试剂五	60	60

混匀, 80℃ 水浴保温 10min, 冷却后, 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。

$$\text{SS 活性 (U/mg prot)} = \frac{C \text{ 标准管} \times A \text{ 测定管}}{A \text{ 标准管} \times T} \div C_{pr} \\ = 100 \times \frac{A \text{ 测定管}}{A \text{ 标准管}} \div C_{pr}$$

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。

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

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

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。

