

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) 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1417A	蔗糖合成酶活性检测试剂盒(合成方向SS-II) 分光法	24T

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 30mL×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. 可见分光光度计预热 30min，调节波长到 480 nm，蒸馏水调零。

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。



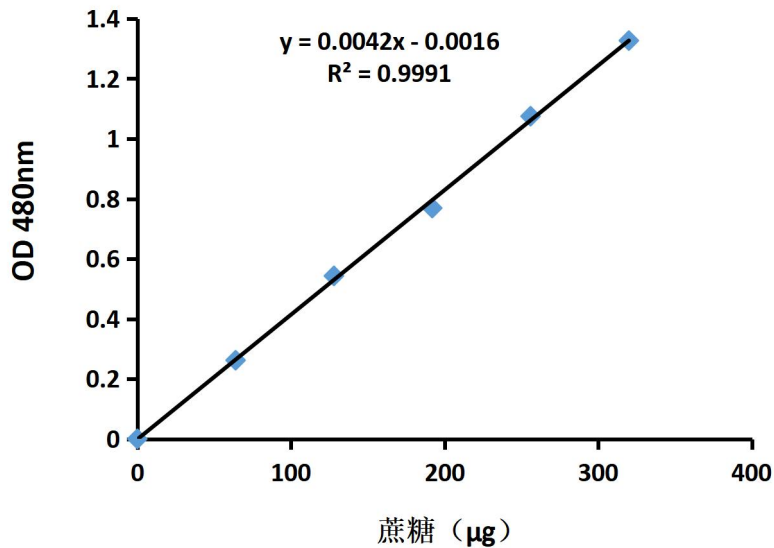
2. 在离心管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
试剂一	80	-
蒸馏水	-	80
样本	40	40
37°C准确水浴 20min 后		
试剂二	20	20
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	400	400
试剂四	120	120
混匀，95°C水浴 20min，冷却后，取全部液体至 1 mL 玻璃比色皿（光径 1cm）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 60μL，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 = 0.0042x - 0.0016；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。

$$\text{SS-II活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot})=[(\Delta\text{A}+0.0016)\div 0.0042]\div(\text{V1}\times\text{Cpr})\div\text{T}$$

$$=297.6\times(\Delta\text{A}+0.0016)\div\text{Cpr}\times\text{D}$$

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。

$$\text{SS-II活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重})=[(\Delta\text{A}+0.0016)\div 0.0042]\div(\text{W}\times\text{V1}\div\text{V})\div\text{T}$$

$$=297.6\times(\Delta\text{A}+0.0016)\div\text{W}$$

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。



4. 按照液体体积计算:

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。

$$SS-II\text{活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mL})=[(\Delta A+0.0016)\div 0.0042]\div V1\div T=297.6\times(\Delta A+0.0016)$$

V---加入提取液体积, 1 mL

V1---加入样本体积, 0.04mL

T---反应时间, 20 min

W---样本质量, g

D---稀释倍数, 未稀释即为 1

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, 1.6, 3.2, 4.8, 6.4, 8. 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。

