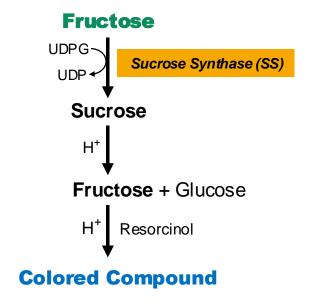


# 蔗糖合成酶(SS)活性检测试剂盒 Sucrose Synthase (SS) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司 Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



















Catalog Number **AKSU021C**Storage Temperature **-20°C**Size **70T/25S** 

**Visible Spectrophotometry** 

# 蔗糖合成酶(SS)活性检测试剂盒 Sucrose Synthase (SS) Activity Assay Kit

# 一、产品描述

蔗糖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, SS)是植物糖代谢过程的关键酶,负责催化蔗糖合成与分解的可逆反应,其合成活性可催化植物体内游离果糖和葡萄糖生成蔗糖。

蔗糖合成酶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生成有色物质,产物在480 nm 处具有特征吸收峰,通过吸光值变化即可表征蔗糖合成酶的活性。

# 二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	液体 10 mL×1 瓶	-20℃保存	-
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂三	液体 60 mL×1 瓶	4℃保存	•
试剂四	液体 15 mL×1 瓶	4°C避光保存	•
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 蔗糖标准品)	4℃保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 10 mg/mL 蔗糖标准液)

**标准稀释液的制备:** 将 10 mg/mL 蔗糖标准液使用蒸馏水稀释至 3.0、2.0、1.0、0.5、0.25、0.125 mg/mL 即为标准稀释液。

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度(mg/mL)	10	10	2.0	1.0	0.5	0.25
标准液体积(μL)	150	100	200	200	200	200
蒸馏水体积(μL)	350	400	200	200	200	200
稀释后浓度(mg/mL)	3.0	2.0	1.0	0.5	0.25	0.125



# 三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

# 1.粗酶液的制备(可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

按照组织质量(g): 提取液体积(mL)为1:(5-10)的比例(建议称取 0.1 g 组织,加入 1 mL 提取液)处理样品,冰浴匀浆, $4^{\circ}$ C 8000 g 离心 10 min,取上清即为**粗酶液**,置于冰上待测。

# 2.测定步骤

- ①分光光度计预热 30 min 以上,调节波长至 480 nm,蒸馏水调零。
- ②灭活粗酶液的制备: 取适量粗酶液沸水浴处理 5-10 min (密封以防止水分散失), 冷却至室温后即为灭活粗酶液, 可将待测粗酶液统一进行处理。
  - ③在离心管中依次加入下列试剂:

75 4d	测定管	对照管	标准管	空白管					
试剂 	(μL)	(μL)	(μL)	(μL)					
粗酶液	30	-	-	-					
灭活粗酶液	-	30	-	-					
标准稀释液	-	-	30	-					
试剂一	150	150	-	-					
蒸馏水	-	-	150	180					
充分混匀, 25℃准确反应 10 min									
试剂二	50	50	50	50					
充分混匀,沸水浴处理 10 min (密封以防止水分散失)									
冰水浴迅速冷却至室温									
试剂三	700	700	700	700					
试剂四	200	200	200	200					
充分混匀,80℃显色 20 min,冰水浴迅速冷却至室温									

吸光值测定(30 min 内完成测定): 取 1 mL 反应液至 1 mL 玻璃比色皿中,测定 480 nm 处吸光值,记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白,计算 $\Delta$ A 测定=A 测定-A 对照, $\Delta$ A 标准=A 标准-A 空白。注:空白管只需测定 1-2 次,每个测定管均需设一个对照管。

标准曲线的建立:以 3.0、2.0、1.0、0.5、0.25、0.125 mg/mL 为横坐标(x),以其对应的 $\Delta A$  标准为纵坐标(y),绘制标准曲线,得到标准方程 y=kx+b,将 $\Delta A$  测定带入公式中得到 x(mg/mL)。

#### 3.蔗糖合成酶 (SS) 活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义: 每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1 μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

SS (U/mg prot) = 
$$\frac{\text{x} \times \text{V } \cancel{\text{E}} \times 10^3}{\text{Cpr} \times \text{V } \cancel{\text{E}} \times \text{T}} = \frac{100 \times \text{x}}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义:每g组织每分钟催化产生1μg蔗糖定义为一个酶活力单位。

SS (U/g) = 
$$\frac{\mathbf{x} \times \mathbf{V} \not\in \mathbf{Y} \times \mathbf{V} \not\in \mathbf{X} \times \mathbf{10}^3}{\mathbf{W} \times \mathbf{V} \not\in \mathbf{Y}} = \frac{100 \times \mathbf{x}}{\mathbf{W}}$$

**注释:** V样: 反应体系中加入粗酶液的体积, 0.03 mL; V提: 粗酶液总体积, 1 mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; T: 反应时间, 10 min。

# 四、注意事项

- ①若测定吸光值超出标准线性吸光值范围: 高于最高值建议将粗酶液适当稀释后再进行测定; 低于最低值建议适当增加样本量重新制备粗酶液后再进行测定, 计算时相应修改;
  - ②显色完成后应在 30 min 内完成测定;
- ③为保证结果准确且避免试剂损失,测定前请仔细阅读说明书(以实际收到说明书内容为准),确认试剂储存和准备是否充分,操作步骤是否清楚,且务必取2-3个预期差异较大的样本进行预测定,过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

# boxbio

#### Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd. Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

















