

蔗糖合成酶（分解方向 SS-I）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1168

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：植物组织

产品简介

蔗糖是源（叶片等）光合产物向“库”器官运输的主要形态。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，是蔗糖代谢的关键酶之一。其分解活性可以催化蔗糖水解成 UDPG 与果糖，参与淀粉、纤维素和半纤维素的合成等代谢途径。研究其分解方向 SS-I 的活性对于植物蔗糖降解以及淀粉合成具有重要意义。本试剂盒提供了一种检测 SS-I 活性的便捷方法，其原理是 SS-I 催化蔗糖和 UDP 生成游离果糖和 UDPG，果糖与 3,5-二硝基水杨酸反应生成在 540nm 有特征吸收峰的棕红色物质，通过测定 540nm 处吸光值变化可计算得 SS-I 活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃ 保存
试剂一	5mL	10mL	4℃ 保存
试剂二	2.5mL	5mL	4℃ 保存
试剂三	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃ 保存
试剂四	3mL	6mL	常温避光保存
标准品（10mg 果糖）	粉剂×1 支	粉剂×1 支	4℃ 保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 540nm 处的吸光度）

水浴锅、制冰机、低温离心机

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；4℃ 保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂三：临用前每支试剂三加入 1.2mL 试剂二充分溶解待用，现配现用；未用完的试剂分装-20℃ 保存，避免反复冻融。

试剂四：即用型；常温避光保存，若有黄色晶体析出，需 90℃ 加热溶解后再用。

标准品（10mg 果糖）：临用前加入 1mL 去离子水溶解，配成 10mg/mL 果糖溶液备用，4℃ 可保存一周，或分装-20℃ 长期保存，避免反复冻融。

标准曲线设置：按下表所示，用去离子水将 10mg/mL 标准品稀释为 10、5、2.5、1.25、0.625、0.313、0.156 mg/mL 的标准溶液。

产品说明书

	标准品体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	标准品浓度 (mg/mL)
标准品 1	200μL 10mg/mL	0	10
标准品 2	100μL of 标准品 1 (10mg/mL)	100	5
标准品 3	100μL of 标准品 2 (5mg/mL)	100	2.5
标准品 4	100μL of 标准品 3 (2.5mg/mL)	100	1.25
标准品 5	100μL of 标准品 4 (1.25mg/mL)	100	0.625
标准品 6	100μL of 标准品 5 (0.625mg/mL)	100	0.313
标准品 7	100μL of 标准品 6 (0.313mg/mL)	100	0.156

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，8,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

注意：建议使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80℃下保存一个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 Bradford 蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 540nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	10	10	0	0
标准品	0	0	10	0
去离子水	0	0	0	10
试剂三	40	0	0	0
试剂一	0	40	40	40
混匀，30℃准确水浴 30min 后，95℃水浴 10min（盖紧，以防止水分散失）				
试剂四	50	50	50	50
混匀，95℃水浴 5min 左右（盖紧，以防止水分散失），冷却至室温				
去离子水	400	400	400	400

混匀，取 200 μL 至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，540nm 下测定各管吸光值。标准和空白只需测一次。每个测定管需要设一个对照管。空白孔记为 $A_{空}$ ，标准孔记为 $A_{标}$ ，测定孔记为 $A_{测}$ ，对照孔记为 $A_{对}$ 。计算 $\Delta A_{测} = A_{测} - A_{对}$ ， $\Delta A_{标} = A_{标} - A_{空}$

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{测}$ 小于 0.001 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{测}$ 大于 1.5，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准溶液浓度为 y 轴， $\Delta A_{标}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。

将 $\Delta A_{测}$ 带入方程得到 y (mg/mL)。

2. SS-I 活性的计算：

(1) 按样本质量计算

酶活定义：每 g 样本在反应体系中每分钟分解蔗糖产生 1μg 果糖为 1 个酶活力单位。

SS-I 酶活 (U/g 质量) = $y \times V_{反应} \times 10^3 \div (V_{样} \div V_{样总} \times W) \div T = 166.67y \div W$

产品说明书

(2) 按样本蛋白浓度计算

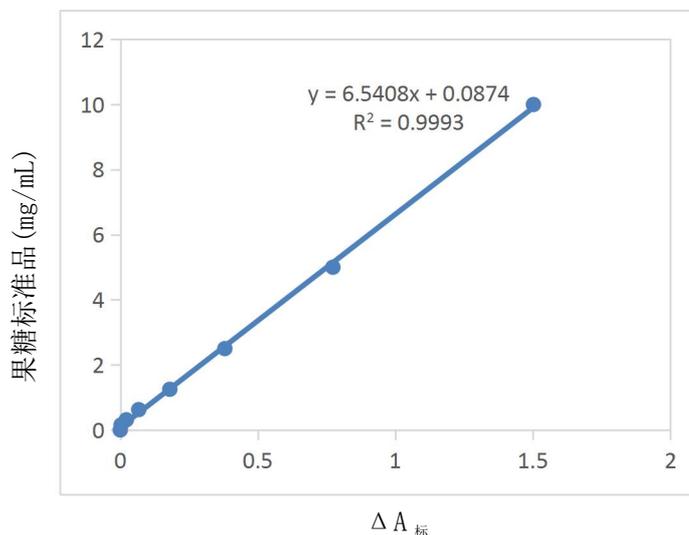
酶活定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟分解蔗糖产生 1 μ g 果糖为 1 个酶活力单位。

SS-I 酶活 (U/mg prot) = $y \times V_{\text{反总}} \times 10^3 \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 166.67y \div \text{Cpr}$

$V_{\text{反总}}$ ：反应总体积，0.05mL； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中样本体积，0.01mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； 10^3 ：单位换算系数，1mg=10³ μ g；W：样本鲜重，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；T：反应时间：30min。

结果展示

典型标准曲线



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1164 葡萄糖检测试剂盒（微量法）
- PMK1165 果糖检测试剂盒（微量法）
- PMK1166 蔗糖检测试剂盒（微量法）
- PMK1167 蔗糖酶检测试剂盒（微量法）
- PMK1169 蔗糖合成酶（合成方向 SS-II）检测试剂盒（微量法）
- PMK1170 蔗糖磷酸合成酶（SPS）检测试剂盒（微量法）



更多产品详情了解，请关注公众号：