

蔗糖合成酶(SS)活性检测试剂盒(可见分光光度法)

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号: BA1259

产品规格: 50管24样

产品内容:

提取液:液体30mL×1瓶,4℃保存; 试剂一:液体4mL×1瓶,-20℃保存;

试剂二: 粉剂10mg×1 支,4℃保存,临用前加1mL水,配制成10mg/mL蔗糖溶液,再将其用蒸馏水稀释为500μg/mL 备用;

试剂三:液体3mL×1瓶,4℃保存;试剂四:液体40mL×1瓶,4℃保存;试剂五:液体 0mL×1瓶,4℃保存。

产品说明:

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。

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、1mL玻璃比色皿、研钵、冰、蒸馏水

操作步骤:

一、测定样品提取:

按照组织质量(g): 提取液体积(mL)为 1: $5\sim10$ 的比例(建议称取约0.1g组织,加入1mL提取液),进行冰浴匀浆。8000g 4 $\mathbb C$ 离心10min,取上清,置冰上待测。

二、测定操作表:

- 1、可见分光光度计预热30min以上,波长调至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(uL)	测定管	对照管	标准管	空白管
样品	30	30		
蒸馏水		150	150	150
试剂一	150			
试剂二			30	
混匀,25℃准确水浴10min				
试剂三	50	50	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	700	700
试剂五	200	200	200	200



Q Q: 807961520 731791866 邮箱: shsunbao@126.com http://www.saint-bio.com



混匀,沸水浴30min,冷却后,在480nm下测定各管吸光值。标准管和空白管各只要做一管。每个测定管需要设定一个对照管。

三、SS活力单位的计算:

1、按照蛋白浓度计算

单位定义:每mg组织蛋白每分钟催化产生1µg蔗糖定义为一个酶活力单位。

SS活性(μg/min/mg prot)= { C标准管×V1×(A测定管-A对照管)÷(A标准管-A空白管) } ÷(V1×Cpr)÷T =50×(A测定管-A对照管)÷(A标准管-A空白管)÷Cpr

2、按照样本鲜重计算

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活性(μg/min /g 鲜重)= { C标准管×V1×(A测定管-A对照管)÷ (A标准管-A空白管)} ÷(W×V1÷V2)÷T =50×(A测定管-A对照管)÷ (A标准管-A空白管)÷W

C标准管:标准管浓度,500μg/mL; V1:加入反应体系中样本体积,0.03mL; V2: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。

3、尽量在30min内完成测定。

http://www.saint-bio.com