

## 可溶性淀粉合成酶（SSS）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1188

产品规格：100管/96样

### 产品简介：

SSS（EC 2.4.1.21）通常以游离态存在于质体基质中，催化淀粉链延长，主要负责支链淀粉的合成。

SSS催化ADPG与淀粉引物(葡聚糖)反应，将葡萄糖分子转移到淀粉引物上，同时生成ADP，在反应体系中添加的丙酮酸激酶、己糖激酶和 6-磷酸葡萄糖脱氢酶依次催化NADP<sup>+</sup>还原为NADPH，NADPH生成量与前一步反应中ADP生成量呈正比，340nm下测定NADPH增加量即可计算SSS活性。

**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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

### 产品内容：

试剂名称/规格	100T	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体35mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂三	粉剂×1瓶	-20℃
试剂四	粉剂×2瓶	-20℃
试剂五	粉剂×1瓶	-20℃
试剂六	粉剂×3支	-20℃
试剂七	液体250μL×2支	-20℃
试剂八	液体12.5μL×2瓶	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 试剂四：临用前取1瓶加入5mL试剂一溶解。
2. 试剂五：临用前加入10mL试剂一溶解。
3. 试剂六：临用前取1支加入208μL双蒸水，充分溶解备用，用不完的试剂4℃保存。
4. 试剂七：可分装后-20℃保存，不可反复冻融。
5. 试剂八：临用前取1瓶加入溶解好的4mL试剂四。
6. 反应液 I：临用前在试剂二中加入14mL试剂一，缓慢加热，逐渐升温使其溶解，冷却后加入试剂三混合溶解。

### 需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）：

粗酶液制备：称取约0.1g组织加入1mL提取液，冰浴中匀浆。10000g，4℃离心10分钟，取上清，置冰上待测。

#### 二、测定步骤：



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

1. 紫外分光光度计预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。
2. 样本测定：在EP管内按顺序加入

试剂名称 (μL)	测定管
样本	100
反应液I	135
混匀，30℃保温20min，置沸水浴中1min（盖紧，防止水分散失），冰浴冷却	
试剂八	75
混匀，30℃保温30min，置沸水浴中1min（盖紧，防止水分散失），冰浴冷却，10000g常温离心10min，取上清液。37℃预热试剂五和上清液。	
上清液	150
试剂五	100
试剂六	5
试剂七	5

混匀后立即取出200μL于微量石英比色皿或96孔板中在340nm波长下记录初始吸光度A1和2min后的吸光度A2，计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

**注意：**试剂二如有沉淀，加入之前要使之充分溶解混匀。

### 三、SSS活性计算

**a. 使用微量石英比色皿测定的计算公式如下：**

1. 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生1nmol NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{SSS (U/mg prot)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{测}}] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{反总}} \times V_{\text{上清}}) \div T$$

$$= 432 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

此法需要自行测定粗酶液蛋白质浓度。

2. 按照样本鲜重计算

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟催化产生1nmol NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{SSS 活性 (U/g 鲜重)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{测}}] \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{反总}} \times V_{\text{上清}}) \div T$$

$$= 432 \times \Delta A \div W。$$

V<sub>测</sub>：测量体积，0.26mL；V<sub>样</sub>：加入样本体积，0.1mL；V<sub>反总</sub>：反应体积，0.31mL；V<sub>上清</sub>：加入上清液体积，0.15mL；V<sub>提取</sub>：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，20min；ε：NADPH消光系数， $6.22 \times 10^{-3} \text{ mL}/(\text{nmol} \cdot \text{cm})$ ；d：石英比色皿光径，1cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

**b. 使用96孔UV板测定的计算公式如下：**

1. 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生1nmol NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{SSS活性 (U/mg prot)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{测}}] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{反总}} \times V_{\text{上清}}) \div T = 72 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

此法需要自行测定样本蛋白质浓度。

2. 按照样本质量计算：

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟催化产生1nmol NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{SSS活性 (U/g 质量)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{测}}] \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{反总}} \times V_{\text{上清}}) \div T = 72 \times \Delta A \div W$$

V<sub>测</sub>：测量体积，0.26mL；V<sub>样</sub>：加入样本体积，0.1mL；V<sub>反总</sub>：反应体积，0.31mL；V<sub>上清</sub>：加入上清液体积，0.15mL；V<sub>提取</sub>：加入提取液体积，1mL；ε：NADPH摩尔消光系数， $6.22 \times 10^{-3} \text{ mL}/\text{nmol}/\text{cm}$ ；d：96孔板光径，0.6cm；T：反应时间，20min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com