

蔗糖合成酶(SS)活性检测试剂盒

Sucrose Synthetase Assay Kit

微量法

货号: AK233

规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液 ES14	100mL×1 瓶	4℃保存;
AK233-A	2.5mL×1 瓶	-20℃保存;
AK233-B	10mL×1 瓶	4℃保存;
AK233-C	2mL×1 瓶	4℃保存;
AK233-D	25mL×1 瓶	4℃保存;
AK233-E	6mL×1 瓶	4℃保存;

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 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, SS)(EC 2.4.1.13)催化植物体内游离果糖和葡萄糖合成蔗糖。

原理: 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。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、离心机、移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、冰

粗酶提取:

按照组织质量(g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液 ES14), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定步骤:

1. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 480nm, 蒸馏水调零。
2. 在 EP 管中依次加入下列试剂

试剂名称	测定管 (ul)	对照管 (ul)	标准管 (ul)	空白管 (ul)
上清	10	10		
蒸馏水		45	45	55
AK233-B			10	
AK233-A	45			
混匀, 25℃准确水浴10min				
AK233-C	15	15	15	15
沸水浴中煮沸 10min 左右(盖紧, 以防止水分散失), 冷却				
AK233-D	210	210	210	210
AK233-E	60	60	60	60
混匀, 沸水浴 30min, 冷却后, 取 200μL 至微量石英比色皿或 96 孔板中, 480nm 下测定各管吸光值。				

注意: 标准管和空白管只要做一管。每个测定管需要设一个对照管。

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 1 μ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SS 活性 } (\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}) = \{C \text{ 标准管} \times V1 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})\} \\ \div (V1 \times Cpr) \div T = 100 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div Cpr$$

※ 蛋白定量检测建议使用本公司: BCA Protein Assay Kit (C05-02001)

(2) 按照样本鲜重计算

单位定义: 每 g 组织每分钟催化产生 1 μ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SS 活性 } (\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = \{C \text{ 标准管} \times V1 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})\} \\ \div (W \times V1 \div V2) \div T = 100 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W$$

注: C 标准管: 标准管浓度, 1000 μ g/mL; V1: 加入反应体系中样本体积, 0.01mL; 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。