

植物蔗糖合成酶（SS）活性检测试剂盒说明书

| 产品货号 | 产品名称 | 包装规格 | 测定方法 |
|-----------|----------------------|------|------|
| PMHB8-C24 | 蔗糖合成酶（SS）活性检测 试剂盒 | 24T | 常量法 |
| PMHB8-C48 | | 48T | |

一、测定意义：

蔗糖是重要的光合产物，是植物体内运输的主要物质，是糖类的暂存形式之一。蔗糖磷酸合成酶以果糖-6-磷酸为受体，形成的蔗糖磷酸在蔗糖磷酸酶的作用下形成蔗糖。蔗糖磷酸合成酶-蔗糖磷酸酶是蔗糖合成的主要途径。

二、测定原理：

蔗糖磷酸合成酶催化果糖-6-磷酸反应生成蔗糖磷酸，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。

三、试剂组成：

| 试剂名称 | 试剂装量（24T） | 试剂装量（48T） | 保存条件 |
|----------------|---------------|---------------|--------|
| 提取液 | 液体 30 mL×1 瓶 | 液体 60 mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂一 | 液体 8 mL×1 瓶 | 液体 8 mL×1 瓶 | -20℃保存 |
| 试剂二 | 液体 15 mL×1 瓶 | 液体 15 mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂三 | 液体 100 mL×1 瓶 | 液体 100 mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂四 | 液体 35 mL×1 瓶 | 液体 35 mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 标准品 (10 mg) | 粉剂 ×1 支 | 粉剂×2 支 | 2-8℃保存 |

标准品（10mg/mL）的配制：临用前取一支粉剂（10mg）中加入 1mL 双蒸水，混匀，充分溶解，现用现配。

四、操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，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），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 480nm，蒸馏水调零；
- 2、取上清液 90μL 在 100℃水中煮沸 10min；
- 3、将 10mg/mL 标准品用双蒸水依次稀释至 1000、800、600、400、200μg/mL，备用；

4、操作表：

| 试剂名称 | 测定管 | 对照管 | 空白管 | 标准管 |
|-----------|-----|-----|-----|-----|
| 样本(μL) | 90 | - | - | - |
| 煮沸的样本(μL) | - | 90 | - | - |
| 蒸馏水(μL) | - | - | 90 | - |
| 标准品(μL) | - | - | - | 90 |
| 试剂一(μL) | 110 | 110 | 110 | 110 |

30°水浴准确反应 30min

| | | | | |
|---|------|------|------|------|
| 试剂二(μL) | 200 | 200 | 200 | 200 |
| 沸水浴中煮沸 10min（盖紧，以防止水分散失），冷却 | | | | |
| 试剂三(μL) | 1500 | 1500 | 1500 | 1500 |
| 试剂四(μL) | 500 | 500 | 500 | 500 |
| 混匀，80℃水浴保温 20min，冷却后，12000rpm 常温离心 10min。取 1mL 上清液在波长 480nm 下测定各管吸光值。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。（标准管和空白管各只要做 1-2 管，每个测定管需要设定一个对照管） | | | | |

五、植物样本中蔗糖合成酶（SS）活性计算：

1、标准曲线的绘制：据标准管的浓度（y, μg/mL）和吸光度 $\Delta A_{\text{标准}}$ ($x, \Delta A_{\text{标准}}$)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ ($x, \Delta A_{\text{测定}}$) 带入公式计算样本浓度（y, μg/mL）。

2、按样本质量计算：

单位定义：每 g 每分钟催化产生 1 μ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{计算公式: } SPS \text{ } (\mu\text{g/min/g}) = y \times V_{\text{样}} \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T \\ = 0.03 \times y \div W$$

3、按蛋白浓度计算：

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。

$$\text{计算公式: } SPS \text{ } (\mu\text{g/min/mg prot}) = y \times V_{\text{样}} \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T \\ = 0.03 \times y \div Cpr$$

$V_{\text{样}}$: 反应体系中加入的样本体积, 90 μ L=0.09mL; $V_{\text{样总}}$: 加入的提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 30min; Cpr: 蛋白质浓度, mg/mL;

W: 样本质量, g。

六、注意事项：

- 1、试剂三有刺激性味道, 注意防护;
- 2、沸水浴时候, 注意离心管的盖子一定需要盖紧。最好是使用带旋盖的管子;
- 3、不同样本蔗糖合成酶活性差异较大, 取 2-3 个样本先做预实验。
- 4、沸水浴煮沸时间一定保证足够。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日