

可溶性淀粉合成酶(SSS)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
PMHD2-C24	可溶性淀粉合成酶(SSS) 活性检测试剂盒	24T	常量法
PMHD2-C48		48T	

一、测定意义：

可溶性淀粉合成酶（SSS）活性测定是探究淀粉合成代谢机制的关键手段，其结果可直观反映生物体内淀粉合成的效率与动态过程，为作物产量品质改良、工业淀粉原料筛选及淀粉代谢相关疾病研究等领域提供重要理论依据与数据支撑。

二、测定原理：

SSS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⁺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。

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 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 10mL×1 瓶	液体 16mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二 A	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	2-8℃保存
试剂二 B	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	-20℃保存
试剂二 C	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	-20℃保存
试剂二的配制：	临用前取1瓶试剂二A加入8mL试剂一，缓慢加热，逐渐升温至煮沸使其溶解，冷却后加入试剂二B和试剂二C混合溶解，-20℃分装保存2周，避免反复冻融。		
试剂三 A	液体 5mL×1 瓶	液体 12mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三 B	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	2-8℃保存
试剂三的配制：	临用前试剂三B加入试剂三A溶解备用，-20℃分装保存4周，避免反复冻融。		
试剂四	液体 16μL×1 支	液体 30μL×1 支	-20℃保存

试剂四的配制：临用前先离心，取7μL试剂四加入2.24 mL溶解好的试剂三混合备用（约14T），现用现配，也可根据样本量按比例配制。			
试剂五 A	液体 8mL×1 瓶	液体 16mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五 B	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	2-8℃保存
试剂五 C	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	2-8℃保存
试剂五的配制：临用前取试剂五B和试剂五C加入试剂五A溶解备用，20℃分装保存4周，避免反复冻融。			
试剂六	粉剂 ×2 支	粉剂 ×4 支	-20℃保存
试剂六的配制：临用前取1支加入208 μL蒸馏水充分溶解，-20℃分装保存2周，避免反复冻融。			
试剂七	粉剂 ×1 支	粉剂 ×1 支	-20℃保存
试剂七的配制：临用前加入2mL蒸馏水，用不完的试剂-20℃分装保存8周，避免反复冻融。			

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340nm。
- 2、测定前将试剂恢复至室温；
- 3、样本测定（在离心管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管
样本（μL）	200
试剂二（μL）	270
混匀，30℃保温20min，置沸水浴中1min（缠封口膜，防止爆盖），冰浴冷却。	
试剂四（μL）	150
混匀，30℃保温30min，置沸水浴中1min（缠封口膜，防止爆盖），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 (μL)	450
试剂五 (μL)	300
试剂六 (μL)	15
试剂七 (μL)	15

混匀后立即在 340nm 波长下记录初始吸光度 A_1 和 2min 后的吸光度 A_2 , 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

五、SSS 活性计算:

1、按样本蛋白浓度计算:

单位定义: 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。

计算公式: $SSS(U/mg\ prot) = [\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{测}] \div (Cpr \times V_{样本} \div V_{反总} \times V_{上清}) \div T = 43.2 \times \Delta A \div Cpr$

此法需要自行测定粗酶液蛋白质浓度。

2、按照样本质量计算:

单位定义: 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。

计算公式: $SSS(U/g) = [\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{测}] \div (W \div V_{提取} \times V_{样本} \div V_{反总} \times V_{上清}) \div T = 43.2 \times \Delta A \div W$

$V_{测}$: 测量体积, 0.78mL; $V_{反总}$: 反应体积, 0.62mL; $V_{提取}$: 加入提取液体积, 1mL; T : 反应时间, 20min; ε : NADPH 消光系数, $6.22 \times 10^3 \text{mL/(nmolcm)}$; d : 1mL 石英比色皿光径, 1cm; $V_{样本}$: 加入样本的量, 0.2mL; $V_{上清}$: 吸取上清液的量, 0.45mL; Cpr : 样本蛋白浓度, mg/mL; W : 样本质量, g。

六、注意事项:

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。

【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