

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K1208-M

产品规格: 96T(40 samples)

检测仪器: 酶标仪(530-550 nm)

Elabscience®蔗糖合成酶（分解方向）(SS-I)

比色法测试盒

**Sucrose Synthase-I (SS-I) Activity Colorimetric
Assay Kit**

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测植物组织样本中蔗糖合成酶(分解方向)(SS-I)的酶活。

检测原理

蔗糖合成酶（分解方向）(Sucrose synthase-I, SS-I)催化底物反应生成还原糖，还原糖与显色剂反应可呈现颜色变化，在 540 nm 下有特征吸收峰，酶活力大小与颜色的深浅成正比。

本试剂盒检测植物组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司考马斯亮蓝法(货号：E-BC-K168-M)进行测定。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 (Extraction Solution)	55 mL×1 瓶	-20℃保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	缓冲液 (Buffer Solution)	10 mL×1 瓶	-20℃保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 (Substrate)	粉剂×2 支	-20℃保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 (Chromogenic Agent)	11 mL×1 瓶	-20℃避光保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	标准品 (Standard)	粉剂×2 支	-20℃保存 6 个月
	酶标板	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张	
	样本位置标记表	1 张	

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。
对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(530 - 550 nm，最佳检测波长 540 nm)、恒温水浴锅、恒温箱。

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温(25℃)。

② 试剂三工作液的配制：

取一支试剂三，加入2 mL试剂二混合均匀，未用完的试剂三工作液可-20℃保存1周。

③ 试剂四使用前，60-70℃水浴加热10 min。

④ 2 mg/mL标准品的配制：

取一支试剂五，使用5 mL试剂一充分溶解均匀，即可得2 mg/mL标准品，未用完的2 mg/mL标准品可-20℃保存1周。

⑤ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mg/mL)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.2	1.6	2
2 mg/mL 标准品(μL)	0	20	40	60	80	120	160	200
试剂一(μL)	200	180	160	140	120	80	40	0

样本准备

① 样本处理

植物组织样本：按照样本质量(g)：试剂一体积(mL)=1:9的比例匀浆(如称取0.1 g的组织样本，加入0.9 mL的试剂一)。10000 × g，4℃离心10 min，取上清液置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的检测范围：0.39 - 66.67 U/mL，不同样本的稀释如下表(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%土豆组织匀浆	不稀释	10%白菜叶组织匀浆	不稀释
10%青椒组织匀浆	不稀释	10%玉米种子组织匀浆	不稀释

注：稀释液为试剂一

实验关键点

准确显色 5 min，避免显色时间过长。

操作步骤

- ① 标准管：取 20 μL 不同浓度的标准品溶液，分别加入相应的 EP 管中。
对照管：取 20 μL 待测样本加入相应的 EP 管中。
测定管：取 20 μL 待测样本相应的 EP 管中。
- ② 向步骤①中标准管和对照管加入 80 μL 试剂二。
向步骤①中测定管加入 80 μL 试剂三工作液。
- ③ 充分混匀，37℃反应 30 min。
- ④ 向步骤③中各管加入 100 μL 试剂四。
- ⑤ 充分混匀，沸水浴处理 5 min，流水冷却。
- ⑥ 向步骤⑤中各管加入 400 μL 超纯水。
- ⑦ 充分混匀，4℃，10000 × g 离心 10 min。
- ⑧ 取 200 μL 上清于酶标板中，酶标仪 540 nm 波长下检测各孔吸光度。

计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

操作表

	标准管	对照管	测定管
不同浓度的标准品溶液(μL)	20	--	--
待测样本(μL)	--	20	20
试剂二(μL)	80	80	--
试剂三工作液(μL)	--	--	80
充分混匀，37℃反应 30 min。			
试剂四(μL)	100	100	100
充分混匀，沸水浴处理 5 min，流水冷却。			
超纯水(μL)	400	400	400
充分混匀，4℃，10000 × g 离心 10 min，取 200 μL 上清于酶标板中，酶标仪 540 n 波长下检测各孔吸光度。计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。			

本试剂盒检测植物组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司考马斯亮蓝法(货号：E-BC-K168-M)进行测定。

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

植物组织样本中蔗糖合成酶(分解方向)酶活计算公式:

① 按样本蛋白浓度计算:

定义: 37°C条件下, 每毫克植物组织蛋白每分钟催化底物生成 1 μg 还原糖所需要酶活为一个酶活力单位。

$$\text{SS-I 活性 (U/mgprot)} = \frac{\Delta A - b}{a} \times V_1 \times 10^3 \div T \div (V_1 \times C_{\text{pr}}) \times f = 33.33 \times \frac{\Delta A - b}{a} \div C_{\text{pr}} \times f$$

② 按照样本鲜重计算:

定义: 37°C条件下, 每克植物组织每分钟催化底物生成 1 μg 还原糖所需要酶活为一个酶活力单位。

$$\text{SS-I 活性 (U/g wet weight)} = \frac{\Delta A - b}{a} \times V_1 \times 10^3 \div T \div (V_1 \div V_2 \times m) \times f = 33.33 \times \frac{\Delta A - b}{a} \div m \times f \times V_2$$

注解:

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA : 测定 OD 值-对照 OD 值

V_1 : 加入样本体积, mL

V_2 : 加入提取液体积, mL

T: 反应时间, 30 min

C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mgprot/mL

m: 样本质量, g

10^3 : 1 mg = 10^3 μg

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

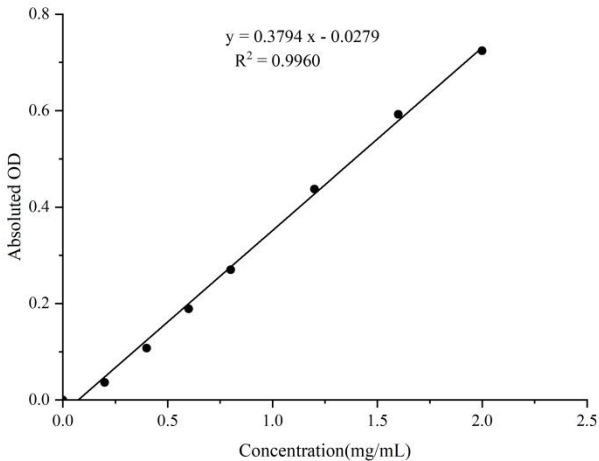
检测范围	0.39-66.67 U/mL	批间差	5.1-9.2%
灵敏度	0.39 U/mL	批内差	3.7-5.4%
稀释回收率	94-110%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量20 μ L, 按照操作步骤进行实验, OD值如下表所示:

标准品浓度(mg/mL)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.2	1.6	2
OD 值	0.067	0.104	0.175	0.260	0.343	0.504	0.665	0.789
	0.069	0.104	0.176	0.254	0.333	0.507	0.656	0.795
平均 OD 值	0.068	0.104	0.176	0.257	0.338	0.506	0.661	0.792
绝对 OD 值	0.000	0.036	0.108	0.189	0.270	0.438	0.593	0.724

② 绘制标曲(如下图):



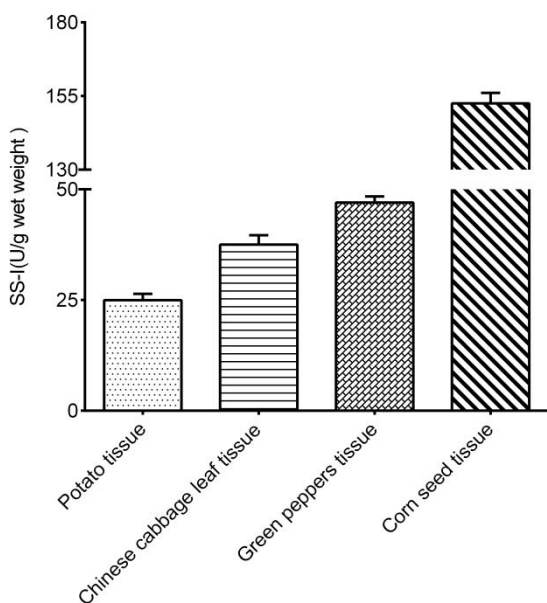
附录2 实例分析

例如检测玉米种子(数据仅供参考):

取20 μL 10%玉米种子组织上清液,按操作表操作,结果如下:标准曲线:
 $y = 0.3794x - 0.0279$, 对照孔平均OD值为0.408, 测定孔平均值为0.572, 计算结果为:

$$\begin{aligned}\text{SS-I活性(U/g wet weight)} &= (0.572 - 0.408 + 0.0279) \div 0.3794 \times 30 \div 0.1 \\ &= 151.74 \text{ U/g wet weight}\end{aligned}$$

按说明书操作,测定土豆组织(不稀释,加样量20 μL)、白菜叶组织(不稀释,加样量20 μL)、青椒组织(不稀释,加样量20 μL)、玉米种子组织(不稀释,加样量20 μL)中的蔗糖合成酶酶活(如下图):



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

