

CheKine™ 蔗糖合成酶 (SS-II) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB3110

规格: 48 T/24 S

96 T/48 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 植物组织
	保质期: -20℃, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

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, EC2.4.1.13) 是双向反应酶, 既可催化蔗糖合成又可催化蔗糖分解, 是蔗糖代谢的关键酶之一。研究其合成方向 SS-II 的活性对于植物蔗糖合成具有重要意义。

本试剂盒检测原理是 SS-II 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 480 nm 下有特征吸收峰, 酶活力大小与颜色的深浅成正比。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	60 mL×2	4℃
Reagent I	1.25 mL	2.5 mL	-20℃
Reagent II (Standard)	5 mL	10 mL	4℃
Reagent III	1 mL	2 mL	4℃
Reagent IV	13 mL	26 mL	4℃
Reagent V	4 mL	8 mL	4℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 480 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水	检测用
其他	匀浆器、恒温箱、水浴锅、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 该试剂盒提取的样本也可以适用于 KTB3130、KTB3140、KTB3150 的测定。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	-20℃保存
Reagent II (Standard)	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent III	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent IV	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent V	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

- 植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，8000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 480 nm。
2. 检测体系配制：在 1.5 mL 离心管中按照如下方式操作，空白管和标准管只需做 1-2 次，每个测定管均需设置一个对照管。

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
样本	10	10	0	0
去离子水	0	45	45	55
Reagent II (Standard)	0	0	10	0
Reagent I	45	0	0	0
混匀，25℃准确水浴 10 min				
Reagent III	15	15	15	15
沸水浴中煮沸 10 min 左右（盖紧，以防止水分散失），冷却				
Reagent IV	210	210	210	210
Reagent V	60	60	60	60

3. 吸光度检测：混匀，沸水浴 30 min，冷却后，取 200 μL 至 96 孔板中，记录 480 nm 处吸光值。测定管记为 $A_{\text{测定}}$ ，对照管记为 $A_{\text{对照}}$ ，标准管记为 $A_{\text{标准}}$ ，空白管记为 $A_{\text{空白}}$ 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn)>进入“技术中心”>查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

2. SS-II 活性的计算

- 按蛋白浓度计算：

酶活单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1 μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SS-II (U/mg prot)} = (C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}}) \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 100 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

- 按样本鲜重计算：

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

$$\text{SS-II (U/g)} = (C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}}) \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 100 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

$C_{\text{标准}}$ ：标准管浓度，1000 μg/mL； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中样本体积，0.01 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入 Extraction Buffer 体积，1 mL； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL； W ：样本鲜重，g； T ：反应时间，10 min。

07 结果展示

示例-1: 取 0.1 g 水稻茎, 按上述步骤检测, 使用 96 孔板测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.119 - 0.048 = 0.071$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.126 - 0.043 = 0.083$, 按样本鲜重计算活性得: $\text{SS-II (U/g)} = 100 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 855.4 \text{ U/g}$ 。

08 FAQ

- 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办?

如果样本 $\Delta A_{\text{测定}} > 1.0$, 需用 Extraction Buffer 适当进行稀释后, 再进行实验, 或减少提取用样本量。如果样本的 $\Delta A_{\text{测定}} < 0.1$, 可适当提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1015	CheKine™ α -葡萄糖苷酶活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1121	CheKine™ 丙酮酸 (PA) 含量检测试剂盒 (微量法)

CheKine™ 蔗糖合成酶（SS- II）活性检测流程示意图

(Abbkine 货号：KTB3110)

样本处理



植物组织

1 mL Extraction Buffer
冰浴匀浆



8000 g，4℃离心10 min，取上清

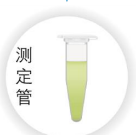


体系配置



标准管

去离子水 45 μ L
Reagent II (Standard) 10 μ L



测定管

样本 10 μ L
Reagent I 45 μ L



对照管

样本 10 μ L
去离子水 45 μ L

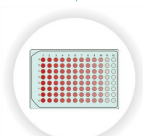


空白管

去离子水 55 μ L

混匀，25℃准确水浴10 min
每管加入Reagent III 15 μ L
沸水浴中煮沸10 min左右（盖紧，以防止水分散失），冷却
每管加入Reagent IV 210 μ L
每管加入Reagent V 60 μ L
混匀，沸水浴30 min，冷却后取200 μ L至96孔板中

数据检测



测定480 nm处的吸光度
结果计算