

CheKine™ 蔗糖合成酶 (SS- I) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB3140

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。研究其分解方向 SS- I 的活性对于植物蔗糖降解以及淀粉合成具有重要意义。

本试剂盒检测原理是 SS- I 催化蔗糖和 UDP 生成游离果糖和 UDPG, 采用 3,5-二硝基水杨酸法测定还原糖的含量来反映酶活性的高低。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	60×2 mL	4℃
Reagent I	3 mL	6 mL	4℃
Reagent II	2.5 mL	5 mL	4℃
Reagent III	Powder×1 vial	Powder×2 vials	-20℃, 避光保存
Reagent IV	4 mL	8 mL	4℃, 避光保存
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃

*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 540 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水	稀释标准品/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：KTD3002 的蛋白质定量试剂盒（Bradford 法）。
- 该试剂盒提取的样本也可以适用于 KTB3130、KTB3150、KTB3110 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）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 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；有刺激性气味，建议在通风橱进行实验
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent II	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent III	即用型	-20℃避光保存
Reagent IV	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存；有毒且有刺激性气味，建议在通风橱进行实验
20 mg/mL Standard	临用前配制；加入 1 mL 去离子水溶解，配成 20 mg/mL 果糖标准液备用	未用完的试剂 4℃保存 1 周

05-1-2 标准品配制

使用 20 mg/mL 果糖标准品，按照下表所示，进一步稀释标准品。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	标准品 (μL)	去离子水 (μL)	浓度 (mg/mL)
1	160	240	8
2	120	280	6
3	100	300	5
4	80	320	4
5	60	340	3
6	40	360	2
7	20	380	1
空白	0	400	0

05-2 样本制备

- **注意：**推荐使用新鲜样本。样本尽量新鲜提取，如果不能当天提取，则把分装的组织块保存在-80℃，一个月内使用。当准备好进行该项实验时，将样本从-80℃拿出后，冰上解冻。但是请注意，这可能会影响样本的稳定性，实验结果可能会低于预期。
- **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 540 nm。
2. **Working Reagent III的配制：**临用前配制；取一支 Reagent III加入 1.8 mL Reagent II 充分溶解待用，现配现用。
3. **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	对照管 (μL)	测定管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
样本	10	10	0	0
Standard	0	0	10	0
去离子水	0	0	0	10
Working Reagent III	0	40	0	0
Reagent I	40	0	40	40
混匀，置于 30℃准确水浴 30 min 后，95℃水浴 10 min（盖紧，以防止水分散失）				
Reagent IV	50	50	50	50
混匀，95℃水浴 5 min（盖紧，以防止水分散失），冷却至室温（避免液体飞溅烫伤以及影响试验数据，建议每次实验后冷却时间保持一致）				
去离子水	400	400	400	400

4. **吸光度检测：**混匀，取 200 μL 至 96 孔板中，记录 540 nm 处吸光值。对照管记为 A_{对照}，测定管记为 A_{测定}，

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. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 代入方程得到 y 值 (mg/mL)。

3. SS- I 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 还原糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SS- I (U/mg prot)} = (V_{\text{样}} \times y) \times 10^3 \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 33.33 \times y \div \text{Cpr}$$

- 按样本鲜重计算：

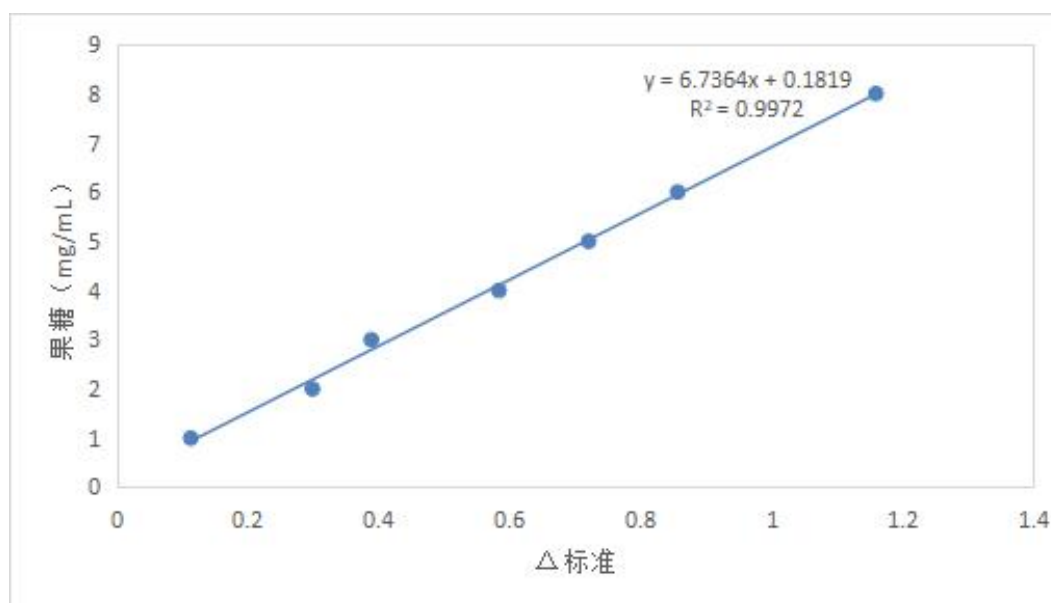
酶活单位定义：每 g 组织每分钟催化产生 1 μg 还原糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SS- I (U/g)} = (V_{\text{样}} \times y) \times 10^3 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 33.33 \times y \div W$$

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.01 mL； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； 10^3 ：单位换算系数，1 mg = $10^3 \mu\text{g}$ ； T ：反应时间，30 min； $V_{\text{样总}}$ ：加入 Extraction Buffer 体积，1 mL； W ：样本质量，g。

07 结果展示

典型标准曲线： $y = 6.7364x + 0.1819$ ， $R^2 = 0.9927$



示例-1: 取 0.189 g 绿萝叶，按上述步骤检测，使用 96 孔板测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.222 - 0.064 = 0.158$ ，代入方程得 $y = 1.25$ ，按样本鲜重计算活性得：SS- I (U/g) = $33.33 \times y \div W = 220.44$ 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 $\Delta A_{\text{测定}} > 8 \text{ mg/mL}$ 的 $\Delta A_{\text{标准}}$ ，样本需用 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 $\Delta A_{\text{测定}} < 1 \text{ mg/mL}$ 的 $\Delta A_{\text{标准}}$ ，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- I) 活性检测流程示意图

(Abbkin 货号 : KTB3140)

