

## Soluble Starch Synthase Activity Kit

### 可溶性淀粉合成酶（SSS）试剂盒说明书

货号：G0537F | 方法：可见分光法 | 规格：48 样

#### 一、产品简介：

可溶性淀粉合成酶（SSS，EC 2.4.1.21）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，通过反应体系中添加的酶促混合物依次催化 NADP<sup>+</sup>还原为 NADPH，且 NADPH 生成量与前一步反应中 ADP 生成量呈正比。

传统方法是通过检测 340nm 下 NADPH 增加量，但该方法检测灵敏度低，且易受到色素（如绿色叶片）干扰，本试剂盒提供一种简单，灵敏，快速的测定方法：该酶促过程产生的 NADPH 与特异的显色探针反应生成有色物质，通过在 450nm 下检测该有色物质的增加速率，进而计算出 SSS 酶活性大小。

#### 二、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂一	液体 90mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂二	液体 6.5 mL×1 瓶	4°C 保存	呈分散状态,用前务必摇匀,即可使用。
试剂三	粉体 mg×1 支	4°C 保存	临用前甩几下使试剂落入底部，再加 1.1 mL 的蒸馏水溶解备用。
试剂四	粉体 mg×1 瓶	4°C 保存	临用前甩几下使试剂落入底部，再加 6.5 mL 的试剂一溶解备用。
试剂五	粉体 mg×1 瓶	4°C 保存	临用前甩几下使试剂落入底部，再加 41mL 的试剂一溶解备用。
试剂六	粉体 mg×1 支	4°C 保存	临用前甩几下使试剂落入底部，再加 4.5mL 蒸馏水溶解备用。
试剂七	液体 4.2mL×1 瓶	4°C 保存	
标准品	粉剂 mg×1 支	-20°C 保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

#### 三、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

#### 四、可溶性淀粉合成酶（SSS）活性检测：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

##### 1、样本制备：

称取约 0.1g 组织（水分多的样本可取 0.5g），加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm，4°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例提取

##### 2、上机检测：

- ① 可见分光光度计预热 30min 以上，设定温度 25°C，调节波长至 450nm，蒸馏水调零。
- ② 所有试剂解冻至室温（25°C），在 EP 管中依次加入：

试剂名称（ $\mu$ L）	测定管	对照管
----------------	-----	-----

样本	80	80
试剂一	280	300
试剂二 (用前务必摇匀)	60	60
试剂三	20	
试剂四	60	60
混匀, 30°C反应 20min, 沸水浴(95-100°C)2min, 12000rpm, 4°C离心 10min, 上清液待测。		

③ 显色反应, 在 1mL 玻璃比色皿中依次加入:

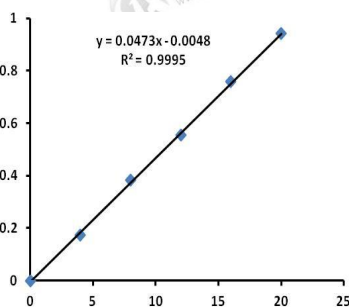
上清液	300	300
试剂五	380	380
试剂六	40	40
试剂七	40	40
混匀, 室温 (25°C) 孵育 15min, 立即于 450nm 处读取吸光值。 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本需做一个样本自身对照)。		

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调;

针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

## 五、结果计算:

1、标准曲线方程:  $y = 0.0473x - 0.0048$ ,  $x$  是 NADPH 摩尔质量: nmol,  $y$  是  $\Delta A$ 。



标准曲线示意图

说明: 标准曲线由标准品测定获得, 具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{SSS}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A + 0.0048) \div 0.0473 \times (V3 \div V2)] \div (Cpr \times V1) \div T \times D$$

$$= 22 \times (\Delta A + 0.0048) \div Cpr \times D$$

3、按照样本鲜重计算:

酶活定义: 每克组织每分钟催化产生 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{SSS}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0048) \div 0.0473 \times (V3 \div V2)] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D$$

$$= 22 \times (\Delta A + 0.0048) \div W \times D$$

V---加入提取液体积, 1mL;

V1---加入样本体积, 0.08mL;

V2---上清液体积, 300 $\mu$ L;

V3---反应体系总体积, 500 $\mu$ L;

T---反应时间, 20min;

W---样本质量; D---稀释倍数, 未稀释即为 1;

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL; 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。