

可溶性淀粉合成酶（SSS）活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC1855

规格：100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 110 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 16 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二 A	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂二 B	粉剂×2 支	-20℃保存
试剂二 C	粉剂×2 支	-20℃保存
试剂三 A	液体 12mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三 B	粉剂×2 瓶	-20℃保存
试剂四	液体 27μL×1 支	2-8℃保存
试剂五 A	液体 18mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五 B	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂五 C	粉剂×2 支	2-8℃保存
试剂六	粉剂×3 支	-20℃保存
试剂七	粉剂×1 支	-20℃保存

溶液的配制：

- 1、试剂二：临用前取 1 瓶试剂二 A 加入 8 mL 试剂一，缓慢加热，逐渐升温至煮沸使其溶解，冷却后加入 1 支试剂二 B 和 1 支试剂二 C 混合溶解，这样可以分两批配制并且测定，用不完的试剂-20℃分装保存 2 周，避免反复冻融。
- 2、试剂三：临用前取 1 瓶试剂三 B 加入 5mL 试剂三 A 溶解备用，用不完的试剂-20℃分装保存 4 周，避免反复冻融。
- 3、试剂四：临用前先离心，取 12.5 μL 试剂四加入 4 mL 溶解好的试剂三混合备用（约 53T），现用现配，也可根据样本量按比例配制。
- 4、试剂五：临用前取 1 瓶试剂五 B 加入 8mL 试剂五 A 和 1 支试剂五 C 溶解备用，用不完的试剂-20℃分装保存 4 周，避免反复冻融。
- 5、试剂六：临用前取 1 支加入 208 μL 蒸馏水充分溶解，用不完的试剂-20℃分装保存 2 周，避免反复冻融（该试剂为冻干试剂，可能存在不同瓶间肉眼观察试剂量相差较大甚至量很少的现象，此现象不影响使用，实际质量相同）。
- 6、试剂七：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（该试剂为冻干试剂，可能存在不同瓶间肉眼观察试剂量相差较大甚至量很少的现象，此现象不影响使用，实际质量相同）。

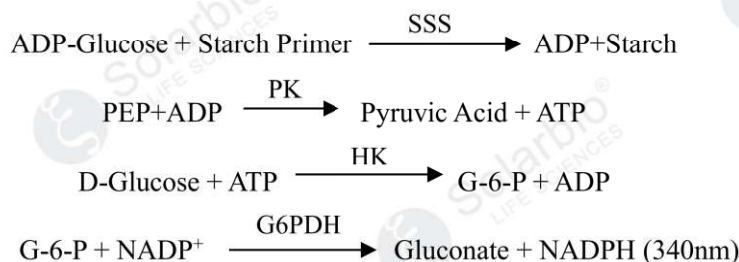
产品说明：

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，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。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液枪、微量石英比色皿/96孔UV板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

粗酶液制备：称取约 0.1g 组织加入 1mL 提取液，冰浴中匀浆。10000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

二、测定步骤

1. 紫外分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm，紫外分光光度计蒸馏水调零。
2. 样本测定：在EP管内按顺序加入

试剂名称（μL）	测定管
样本	100
试剂二	135
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	75
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	150
试剂五	100
试剂六	5
试剂七	5

混匀后立即取出 200μL 于微量石英比色皿或 96 孔 UV 板中在 340nm 波长下记录初始吸光度 A₁ 和 2min 后的吸光度 A₂，计算 ΔA=A₂-A₁。

注意：试剂二如有沉淀，加入之前要使之充分溶解混匀。

三、SSS 活性计算

a.使用微量石英比色皿测定的计算公式如下：

1、按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：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。

SSS 活性（U/mg prot）=[ΔA÷（ε×d）×V_测]÷（C_{pr}×V_样÷V_{反总}×V_{上清}）÷T=43.2×ΔA÷C_{pr}

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：

单位的定义：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。

$$\text{SSS 活性 (U/g 质量)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{测}}] \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{反总}} \times V_{\text{上清}}) \div T = 43.2 \times \Delta A \div W$$

V 测：测量体积，0.26mL；V 样：加入样本体积，0.1mL；V 反总：反应体积，0.31mL；V 上清：加入上清液体积，0.15mL；V 提取：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，20min； ϵ ：NADPH 消光系数， $6.22 \times 10^{-3} \text{ mL}/(\text{nmol} \cdot \text{cm})$ ；d：微量石英比色皿光径，1cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

b.使用 96 孔 UV 板测定的计算公式如下：

1、按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：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。

$$\text{SSS 活性 (U/mg prot)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{测}}] \div (Cpr \times V_{\text{样}} \div V_{\text{反总}} \times V_{\text{上清}}) \div T = 72 \times \Delta A \div Cpr$$

此法需要自行测定样本蛋白质浓度。

2、按照样本质量计算：

单位的定义：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。

$$\text{SSS 活性 (U/g 质量)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{测}}] \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{反总}} \times V_{\text{上清}}) \div T = 72 \times \Delta A \div W$$

V 测：测量体积，0.26mL；V 样：加入样本体积，0.1mL；V 反总：反应体积，0.31mL；V 上清：加入上清液体积，0.15mL；V 提取：加入提取液体积，1mL； ϵ ：NADPH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^{-3} \text{ mL}/\text{nmol}/\text{cm}$ ；d：96 孔 UV 板光径，0.6cm；T：反应时间，20min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

实验实例：

1、取约 0.1g 冬青加入 1mL 提取液，冰浴中匀浆。10000g，4℃离心 10 分钟，取上清置冰上待测。之后按照测定步骤操作，用微量石英比色皿测得计算 $\Delta A = A_2 - A_1 = 1.3654 - 1.3601 = 0.0053$ ，按样本质量计算酶活得：

$$\text{SSS 活性 (U/g 质量)} = 43.2 \times \Delta A \div W = 2.2896 \text{ U/g 质量}。$$

相关发表文献：

[1] Li J, Seng S, Li D, Zhang F, Liu Y, Yao T, Liang J, Yi M, Wu J. Antagonism between abscisic acid and gibberellin regulates starch synthesis and corm development in *Gladiolus hybridus*. *Hortic Res.* 2021 Jul 1;8(1):155. doi: 10.1038/s41438-021-00589-w. PMID: 34193854; PMCID: PMC8245626.

[2] Xiao X, Wang Q, Ma X, Lang D, Guo Z, Zhang X. Physiological Biochemistry-Combined Transcriptomic Analysis Reveals Mechanism of *Bacillus cereus* G2 Improved Salt-Stress Tolerance of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. Seedlings by Balancing Carbohydrate Metabolism. *Front Plant Sci.* 2022 Jan 4;12:712363. doi: 10.3389/fpls.2021.712363. PMID: 35058941; PMCID: PMC8764457.

[3] Wu P, Liu A, Zhu Y, Li X, Wang Y, Li L. Proteomic analysis of *Euryale ferox* Salisb seeds at different developmental stages. *Gene.* 2022 Aug 5;834:146645. doi: 10.1016/j.gene.2022.146645. Epub 2022 Jun 6. PMID: 35680017.

[4] Yang Q, Ding J, Feng X, Zhong X, Lan J, Tang H, Harwood W, Li Z, Guzmán C, Xu Q, Zhang Y, Jiang Y, Qi P, Deng M, Ma J, Wang J, Chen G, Lan X, Wei Y, Zheng Y, Jiang Q. Editing of the starch synthase IIa gene led to transcriptomic and metabolomic changes and high amylose starch in barley. *Carbohydr Polym.* 2022 Jun 1;285:119238. doi: 10.1016/j.carbpol.2022.119238. Epub 2022 Feb 10. PMID: 35287861.





[5] Zhang C, Chen X, Liu W, Ji Y, Yang Y, Chen J, Li P, Li D. Differential expression analysis of sugar accumulation-related genes during chestnut nut development. J Plant Physiol. 2023 Mar;282:153918. doi: 10.1016/j.jplph.2023.153918. Epub 2023 Jan 18. PMID: 36738603.

参考文献:

[1] Jiang H, Dian W, Wu P. Effect of high temperature on fine structure of amylopectin in rice endosperm by reducing the activity of the starch branching enzyme[J]. Phytochemistry, 2003, 63(1): 53-59.

相关系列产品:

- BC3290/BC3295 结合态淀粉合成酶 (GBSS) 活性检测试剂盒
- BC1860/BC1865 淀粉分支酶 (SBE) 活性检测试剂盒
- BC0700/BC0705 淀粉含量检测试剂盒
- BC0610/BC0615 α -淀粉酶 (α -AL) 活性检测试剂盒
- BC2040/BC2045 β -淀粉酶 (β -AL) 活性检测试剂盒

