



## 蔗糖合成酶（分解方向 SS- I ）活性检测试剂盒

### Sucrose Synthase (SS-I) Assay Kit

微量法

产品编号：AK429M

产品规格：100T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
ES429	100mL×1 瓶	4℃保存；
AK429-A	10mL×1 瓶	4℃保存；
AK429-B	5mL×1 瓶	4℃保存；
AK429-C	粉剂×2 支	-20℃保存；临用前每支加入1.2mL AK429-B充分溶解待用，现配现用；
AK429-D	6mL×1 瓶	4℃保存；
AK429-标准品	粉剂×1 支	临用前加入 1 mL 蒸馏水溶解，配成 20 mg/mL 果糖溶液备用，4℃保存一周。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

#### 简介：

**意义：**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, EC 2.4.1.13）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。

**原理：**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。

#### 自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、离心机、移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、冰。

#### 样本的前处理：

- 按照组织质量（g）：ES429 体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL ES429），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

#### 测定步骤：

- 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。
- 将 20mg/mL 标准液用蒸馏水稀释为 8、6、5、4、3、2、1mg/mL 的标准溶液备用。
- 样本测定，（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管（ $\mu$ L）	对照管（ $\mu$ L）	标准管（ $\mu$ L）	空白管（ $\mu$ L）
样本	10	10		
标准溶液			10	
蒸馏水				10
AK429-C	40			
AK429-A		40	40	40
混匀，30℃准确水浴 30min 后，95℃水浴 10min，冷却至室温				
AK429-D	50	50	50	50
95℃水浴 5min 左右，冷却至室温				

蒸馏水	400	400	400	400
混匀，取 200 $\mu$ L 至微量石英比色皿或 96 孔板中，540nm 下测定各管吸光值。分别记为 A 对照管，A 测定管，A 标准管，A 空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管需设一个对照管（标准曲线只需检测 1-2 次）。每个测定管需要设一个对照管。				

### SS- I 活性计算：

#### 1. 标准曲线的绘制：

根据标准管的浓度 (x, mg/mL) 和吸光度  $\Delta A_{\text{标准}}$  (y,  $\Delta A_{\text{标准}}$ )，建立标准曲线。根据标准曲线，将  $\Delta A_{\text{测定}}$  (y,  $\Delta A_{\text{测定}}$ ) 带入公式计算样本浓度 (x, mg/mL)。

#### 2. SS- I 活性的计算：

##### (1) 按照蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1  $\mu$ g 还原糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SS- I 活性 } (\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}) = [x \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 0.17 \div \text{Cpr}$$

##### (2) 按照样本鲜重计算

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

$$\text{SS- I 活性 } (\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [x \times V_{\text{反总}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.17 \div W$$

**注：**  $V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，0.05mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.01 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液 (ES429) 体积，1 mL；T：反应时间，30 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))