

Sucrose Synthase Activity Assay Kit

蔗糖合成酶试剂盒（分解方向；SS-I）说明书

货号：G0513W96 | 方法：微板法 | 规格：96 样

一、产品简介：

蔗糖是叶片等光合产物向各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。

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在 540nm 测定果糖的含量来反映酶活性的高低。

二、试剂盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 120mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂一	A: 液体 1.1mL×4 支 B: 粉体 mg×4 支	4°C 保存	临用前一支 A 液全部转移至一支 B 粉体中，溶解待用，仍-20°C 保存。
		-20°C 保存	
试剂二	液体 3mL×1 支	4°C 保存	
试剂三	液体 12mL×1 棕色瓶	4°C 保存	
标准品	粉剂 mg×1 支	4°C 保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、低温离心机、水浴锅、移液器、蒸馏水。

四、蔗糖合成酶（分解方向；SS-I）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：

① 组织样本：

称取约 0.1g 组织（水分充足的样本可取 0.5g），加入 1mL 提取液，在 4°C 或冰浴进行匀浆（或使用各类常见电动匀浆器）。12,000rpm，4°C 离心 10min，取上清作为待测样品。

【注意】 若样本含糖量高，可引起 A 对照值较大如超过 1.6，即检测背景值过高会影响检测，可在样本制备过程中增加除糖步骤：取约 0.1g 组织（水分充足的样本可取 0.5g），加入 1mL 经预冷的 95%乙醇冰浴匀浆，4°C 放置 10min；12000rpm，4°C 离心 5min；弃上清，留沉淀，向沉淀中加入经预冷的 80%乙醇混匀，4°C 放置 5min；12000rpm，4°C 离心 5min；弃上清，留沉淀。再向沉淀中加入 1mL 经预冷提取液涡旋混匀，4°C 放置 10min；12000rpm，4°C 离心 10min；留上清，弃沉淀。上清液置冰上待测。

② 液体样本：直接测定。若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm。

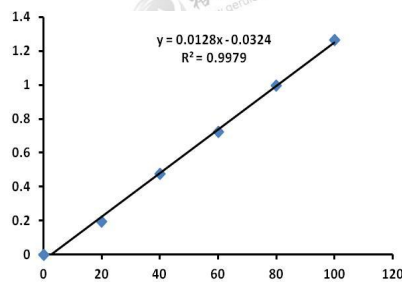
② 试剂一解冻至室温，或于 37°C 条件下孵育 15min 左右，在 EP 管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
试剂一	40	
蒸馏水		40
样本	10	10
37°C准确水浴 30min 后, 95°C水浴 5min		
试剂二	10	10
试剂三	50	50
95°C水浴 10min (可用封口膜缠紧, 防止水份散失), 取出后冰浴或淋浴至室温		
蒸馏水	200	200
混匀, 取 200μL 至 96 孔板中, 540nm 下测定各管吸光值。 ΔA=A 测定管-A 对照管 (每个测定管都需设一个对照管)。		

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: $y = 0.0128x - 0.0324$; x 为标准品质量 (μg), y 为 ΔA。



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、按照蛋白浓度计算:

单位定义: 每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1 μg 果糖定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{SS-I活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0324) \div 0.0128] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \times D \\ &= 260.42 \times (\Delta A + 0.0324) \div \text{Cpr} \times D \end{aligned}$$

3、按照样本鲜重计算:

单位定义: 每克组织每分钟催化产生 1 μg 果糖定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{SS-I活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0324) \div 0.0128] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D \\ &= 260.42 \times (\Delta A + 0.0324) \div W \times D \end{aligned}$$

4、按照液体体积计算:

单位定义：每毫升液体每分钟催化产生 1 μg 果糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SS-I活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mL})=[(\Delta A+0.0324)\div 0.0128]\div V1\div T\times D$$

$$=260.42\times(\Delta A+0.0324)\times D$$

V---加入提取液体积，1 mL；

V1---加入样本体积，0.01 mL；

T---反应时间，30 min；

W---样本质量，g；

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。