

## 蔗糖合成酶(SS)活性检测试剂盒

### Sucrose Synthetase Assay Kit

分光光度法

货号: AK232

规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液 ES14	30mL×1 瓶	4℃保存;
AK232-A	4mL×1 瓶	-20℃保存;
AK232-B	粉剂×1 瓶	4℃保存; 临用前加入 1 mL 水, 配制成 10mg/mL 溶液, 再将其用蒸馏水稀释为 2000 μg/mL 备用
AK232-C	3mL×1 瓶	4℃保存;
AK232-D	40mL×1 瓶	4℃保存;
AK232-E	10mL×1 瓶	4℃保存;

※ 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, SS)(EC 2.4.1.13)催化植物体内游离果糖和葡萄糖合成蔗糖。

原理: SS 催化游离果糖与葡萄糖供体 UDPG 反应生成蔗糖, 蔗糖与间苯二酚反应可呈现颜色变化, 在 480nm 下有特征吸收峰, 酶活力大小与颜色的深浅成正比。

自备用品:

可见分光光度计、水浴锅、台式离心机、移液器、1 mL 玻璃比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

粗酶提取:

按照组织质量(g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液 ES14), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定步骤:

1. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 480nm, 蒸馏水调零。
2. 在 EP 管中依次加入下列试剂:

试剂名称	测定管 (ul)	对照管 (ul)	标准管 (ul)	空白管 (ul)
上清	30	30		
蒸馏水		150	150	180
AK232-B			30	
AK232-A	150			
混匀, 25℃准确水浴 10min				
AK232-C	50	50	50	50
沸水浴中煮沸 10min 左右(盖紧, 以防止水分散失), 冷却				
AK232-D	700	700	700	700
AK232-E	200	200	200	200
混匀, 沸水浴 30min, 冷却后, 480nm 下测定各管吸光值。				

注意: 标准管和空白管只要做 1-2 管。每个测定管需要设一个对照管。

## SS 活力单位的计算:

### (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 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SS 活性 (U/mg prot)} = \{C \text{ 标准管} \times V1 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})\} \\ \div (V1 \times Cpr) \div T = 200 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div Cpr$$

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

### (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 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SS 活性 (U/g 鲜重)} = \{C \text{ 标准管} \times V1 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})\} \\ \div (W \times V1 \div V2) \div T = 200 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W$$

**注:** C 标准管: 标准管浓度, 2000 $\mu$ g/mL; V1: 加入反应体系中样本体积, 0.03mL; V2: 加入提取液体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本鲜重, g; T: 反应时间: 10min。