

Sucrose Synthetase Assay Kit (Decomposition Direction SS-I)

蔗糖合成酶活性检测试剂盒(分解方向 SS-I)

产品编号	产品名称	规格
BL896A	蔗糖合成酶活性检测试剂盒(分解方向SS-I)	24T

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，它不仅是重要的光合产物，也是植物体内运输的主要物质、碳水化合物的贮存形式之一。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，是糖代谢过程的关键酶之一。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。蔗糖合成酶的分解活性可以催化蔗糖水解生成 UDPG 和果糖，参与淀粉、纤维素和半纤维素的合成等代谢途径。

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。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 30mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂一	液体 2.2mL×1 支	4°C 保存	
试剂二	粉末×1 支	-20°C 保存	
试剂二	液体 1mL×1 支	4°C 保存	
试剂三	液体 5mL×1 瓶	4°C 保存	
标准品	粉末×1 支	4°C 保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

工作液配制：临用前试剂一全部转移至试剂二粉末中，溶解待用，仍-20°C 保存。

使用方法:

建议正式实验前，选取 2 个样本做预测定，了解实验样品情况，熟悉流程，避免样本和试剂浪费。

一、样本准备:

1. 组织样本:

(a) 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)；

【注】：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；10000-12000g，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；10000-12000g，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；10000-12000g，4°C 离心 10min；留上清，弃沉淀。上清液置冰上待测。

(b) 10000-12000g，4°C 室温离心 10min，取上清液备用。

2. 液体样本:

澄清的液体样本直接检测，若浑浊离心取上清液检测。

二、样品测定:

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



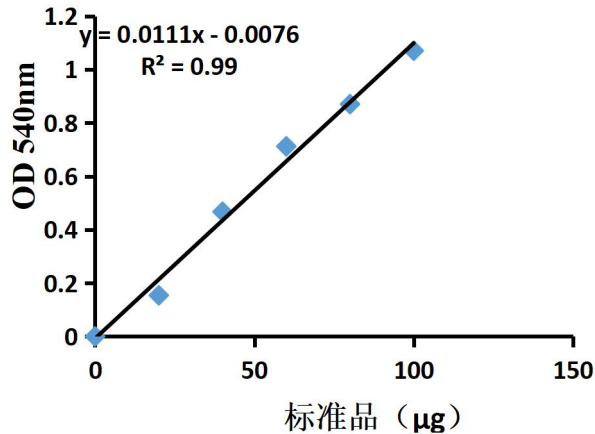
1. 可见分光光度计预热 30min，调节波长到 540 nm，蒸馏水调零。
2. 所有试剂解冻至室温。
3. 在离心管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
工作液	80	-
蒸馏水	-	80
样本	20	20
37°C准确水浴 30min 后，95°C水浴 5min		
试剂三	20	20
试剂四	100	100
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	540	540
混匀，全部转移至 1mL 玻璃比色皿中，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】：** 1. 若ΔA 值过小如在零附近徘徊，可增加样本的加样体积 V1 (如 80μL，则蒸馏水相应减少) 或增加样本取样量 W (如增至 0.2g)，或者延长 37°C水浴时间 T (如 40min 或更长)，相应的变量重新代入计算公式计算。
2. 若 A 测定的值大于 1.8，则可对加入比色皿前的液体用蒸馏水稀释，则稀释倍数 D 需代入计算公式计算。

三、结果计算

- 1、标准方程为 $y = 0.0111x - 0.0076$ ；x 为标准品质量 (μg)，y 为吸光值ΔA。



- 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。

$$\begin{aligned} \text{SS-I活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0076) \div 0.0111] \div (V1 \times Cpr) \div T \times D \\ &= 150.2 \times (\Delta A + 0.0076) \div Cpr \times D \end{aligned}$$

- 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。

$$\begin{aligned} \text{SS-I活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0076) \div 0.0111] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D \\ &= 150.2 \times (\Delta A + 0.0076) \div W \times D \end{aligned}$$

- 4、按照液体体积计算：

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



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。

$$\begin{aligned} \text{SS-I活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mL}) &= [(\Delta A + 0.0076) \div 0.0111] \div V1 \div T \times D \\ &= 150.2 \times (\Delta A + 0.0076) \times D \end{aligned}$$

V---加入提取液体积，1 mL
T---反应时间，30 min
D---稀释倍数，未稀释即为 1

V1---加入样本体积，0.02mL
W---样本质量，g
Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（10mg/mL）：向标准品 EP 管里面加入 1mL 蒸馏水（母液需在两天内用且-20°C保存）。
- 2 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 1, 2, 3, 4, 5. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。

注意事项：

- 1、因提取液中含有蛋白质沉淀剂，因此上清液不能用于蛋白质浓度测定。如需测定蛋白质浓度，需另取组织测定。
- 2、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 3、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

-20°C保存三个月。

