

## 蔗糖合成酶（分解方向；SS- I）检测试剂盒（分光光度法）

**注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。**

### 测定意义：

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。

### 测定原理：

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。

### 试剂组成和配制：

提取液：液体 60mL×1 瓶，4℃保存；

试剂一：液体 10mL×1 瓶，4℃保存；

试剂二：液体 5mL×1 瓶，4℃保存；

试剂三：粉剂×2 支，-20℃保存；临用前每支加入 1.2mL 试剂二充分溶解待用，现配现用；

试剂四：液体 6mL×1 瓶，4℃保存。

### 样品测定的准备：

**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），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 540nm，蒸馏水调零。
- 2、样本测定，（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	20	20
试剂三	80	
试剂一		80

混匀，30℃准确水浴 30min 后，95℃水浴 10min，冷却至室温

试剂四	100	100
-----	-----	-----

95℃水浴 5min 左右，冷却至室温

蒸馏水	800	800
-----	-----	-----

混匀，540nm 下测定各管吸光值。ΔA=A 测定-A 对照。每个测定管需要设一个对照管。

## SS-I 活性计算:

- 1、标准条件下测定回归方程为  $y = 0.0012x - 0.0492$ ；x 为标准品浓度 (μg/mL)，y 为 ΔA。

### 2、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 1μg 还原糖定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{SS-I 活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0492) \div 0.0012 \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T \\ &= 138.9 \times (\Delta A + 0.0492) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

### 3、按照样本鲜重计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化产生 1μg 还原糖定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{SS-I 活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0492) \div 0.0012 \times V_{\text{反总}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 138.9 \times (\Delta A + 0.0492) \div W \end{aligned}$$

V 反总：反应体系总体积，0.1mL；

V 样：加入样本体积，0.02 mL；

V 样总：加入提取液体积，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。