

蔗糖磷酸合成酶（SPS）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号: BC0600

规格: 50T/24S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 30 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂一	液体 5 mL×1 瓶	-20°C保存
试剂二	粉剂 10 mg×1 支	2-8°C保存
试剂三	液体 5 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂四	液体 40 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂五	液体 10 mL×1 瓶	2-8°C保存

溶液的配制:

试剂二: 临用前加 1 mL 水, 配制成 10 mg/mL 蔗糖溶液, 再将其用蒸馏水稀释为 500 µg/mL 备用。

产品简介:

蔗糖不仅是重要的光合产物, 也是植物体内运输的主要物质, 还是碳水化合物的贮存形式之一。蔗糖磷酸合成酶 (SPS) 以果糖-6-磷酸为受体, 形成的蔗糖磷酸在蔗糖磷酸酶的作用下形成蔗糖。一般把蔗糖磷酸酯合成酶-蔗糖磷酸酶系统看作是蔗糖合成的主要途径。

蔗糖磷酸合成酶催化果糖-6-磷酸形成蔗糖磷酸, 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。

注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品:

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

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

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°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

二、测定步骤

1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 480nm, 蒸馏水调零。

2、样本测定 (在 1.5mL EP 管中依次加入下列试剂):

试剂名称 (µL)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	30	30		
蒸馏水		150	150	180
试剂一	150			

试剂二			30	
混匀，25°C准确水浴 10min				
试剂三	50	50	50	50
沸水浴中煮沸 10min 左右（盖紧，以防止水分散失），冷却				
试剂四	700	700	700	700
试剂五	200	200	200	200

混匀，80°C水浴保温 20min，冷却后，12000rpm 常温离心 10min。吸取上清液在 480nm 下测定各管吸光值。
计算 $\Delta A_{测} = A_{测定管} - A_{对照管}$ ， $\Delta A_{标} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。

三、SPS 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 μ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SPS 活性 (U/mg prot)} = (C_{标准管} \times V_1 \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \div (V_1 \times C_{pr}) \div T = 50 \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标} \div C_{pr}$$

2、按照样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化产生 1 μ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SPS 活性 (U/g 质量)} = (C_{标准管} \times V_1 \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \div (W \times V_1 \div V_2) \div T = 50 \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标} \div W$$

C 标准管：标准管浓度，500 μ 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：样本质量，g；T：反应时间，10min。

注意事项：

尽量在 30min 内完成测定。

参考文献：

[1] Schrader S, Sauter J J. Seasonal changes of sucrose-phosphate synthase and sucrose synthase activities in poplar wood (*Populus canadensis* Moench 'robusta') and their possible role in carbohydrate metabolism[J]. Journal of Plant Physiology, 2002, 159(8): 833-843.

相关系列产品：

- BC0580/BC0585 蔗糖磷酸合成酶（SS）活性检测试剂盒
- BC2460/BC2465 植物蔗糖含量检测试剂盒
- BC0560/BC0565 酸性转化酶（AI）活性检测试剂盒
- BC0570/BC0575 中性转化酶（NI）活性检测试剂盒
- BC4310/BC4315 蔗糖合成酶（分解方向，SS-I）活性检测试剂盒
- BC4320/BC4325 细胞壁结合酸性转化酶（CWI）活性检测试剂盒