

蔗糖磷酸合成酶（SPS）活性检测试剂盒说明书

微量法

货号: AC10175

规格: 100T/48S

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，有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 50 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 2.5 mL×1 瓶	-20℃保存
试剂二	粉剂 10 mg×1 支	2-8℃保存
试剂三	液体 2 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 25 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃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。

产品说明：

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/酶标仪、水浴锅、离心机、移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵/匀浆器、冰

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℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

二、测定步骤

1、分光光度计/酶标仪预热 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	10	10		
蒸馏水		45	45	55
试剂一	45			

试剂二			10	
混匀, 25°C准确水浴 10min				
试剂三	15	15	15	15
沸水浴中煮沸 10min 左右 (盖紧, 以防止水分散失), 冷却				
试剂四	210	210	210	210
试剂五	60	60	60	60

混匀, 80°C水浴保温 20min, 冷却后, 12000rpm 常温离心 10min。取 200 μ L 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。

$$\text{SPS 活性(U/mg prot)} = (C_{标准管} \times V1 \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \div (V1 \times Cpr) \div T = 50 \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标} \div Cpr$$

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。

$$\text{SPS 活性(U/g 质量)} = (C_{标准管} \times V1 \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \div (W \times V1 \div V2) \div T = 50 \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标} \div W$$

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, 0.01mL; 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:

- AC10170/AC10171 蔗糖磷酸合成酶 (SS) 活性检测试剂盒
- AC10444/AC10446 植物蔗糖含量检测试剂盒
- AC10166/AC10167 酸性转化酶 (AI) 活性检测试剂盒
- AC10168/AC10169 中性转化酶 (NI) 活性检测试剂盒
- AC10675/AC10676 蔗糖合成酶 (分解方向, SS-I) 活性检测试剂盒
- AC10677/AC10678 细胞壁结合酸性转化酶 (CWI) 活性检测试剂盒