

Sucrose Phosphate Synthase Activity Assay Kit

蔗糖磷酸合成酶（SPS）试剂盒说明书

货号：G0515F | 方法：可见分光法 | 规格：24 样

一、产品简介：

蔗糖磷酸合成酶（EC 2.4.1.14）主要存在细胞质内，参与植物的生长发育，是植物体内催化蔗糖合成的关键酶之一。蔗糖磷酸合成酶催化果糖-6-磷酸形成蔗糖磷酸，蔗糖磷酸与间苯二酚反应生成有色物质，在 480nm 下有特征吸收峰，酶活力大小与颜色的深浅成正比。

二、试剂盒组成和配制：

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 2.1mL×1 支	-20°C保存	
试剂二	液体 1mL×1 支	4°C保存	
试剂三	液体 20mL×1 瓶	4°C保存	
试剂四	粉剂 mg×2 瓶	4°C保存	临用前甩几下使粉剂落入底部，每瓶加入 4mL 蒸馏水充分溶解，现配现用，一周内用完。
标准品	粉剂 mg×1 支	4°C保存	若重新做标曲，则用到该试剂

三、所需仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、水浴锅、离心机、可调式移液器、研钵、蒸馏水。

四、蔗糖磷酸合成酶（SPS）的测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：

称样本 0.1g（水分充足的样本可取 0.5g）于研钵中，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆。12000rpm，4°C离心 10min，取上清液，置冰上待测。

【注意】 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；12000rpm，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；12000rpm，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；12000rpm，4°C离心 10min；留上清，弃沉淀。上清液置冰上待测。

② 液体样本：直接测定。若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测：

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

② 试剂一解冻至室温，或于 37°C条件下孵育 15min 左右，在 EP 管中依次加入：

试剂名称（ μ L）	测定管	对照管
试剂一	80	
蒸馏水		80
样本	40	40

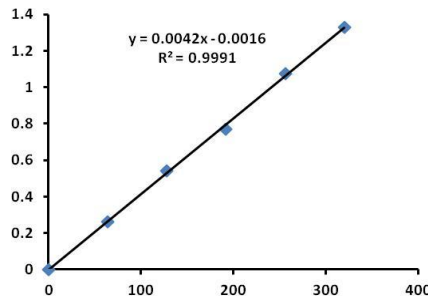
37°C水浴 20min		
试剂二	20	20
试剂二需直接加到反应液里面，且务必混匀（可用枪头吸打），95°C水浴中煮沸 10min（可用封口膜缠紧，防止水分散失），冷却至室温。		
试剂三	400	400
试剂四	120	120
混匀，95°C水浴 20min，冷却后液体全部转入 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，480nm 下读取吸光值 A。 $\Delta A = A$ 测定 - A 对照（每个测定管需设一个对照管）。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；

针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、计算公式：

1、标准曲线方程： $y = 0.0042x - 0.0016$ ；x 是标准品质量（ μg ），y 是 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

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 $1\mu\text{g}$ 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{SPS 活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0016) \div 0.0042] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \\ &= 297.6 \times (\Delta A + 0.0016) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

3、按照样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每分钟催化产生 $1\mu\text{g}$ 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{SPS 活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0016) \div 0.0042] \div (V1 \div V \times W) \div T \\ &= 297.6 \times (\Delta A + 0.0016) \div W \end{aligned}$$

4、按照液体体积计算：

单位定义：每毫升液体每分钟催化产生 $1\mu\text{g}$ 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{SPS 活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mL}) &= [(\Delta A + 0.0016) \div 0.0042] \div V1 \div T \\ &= 297.6 \times (\Delta A + 0.0016) \end{aligned}$$

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入反应体系中样本体积，0.04mL；

W---样本鲜重，g；

T---反应时间：20min；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。