

蔗糖磷酸合成酶（SPS）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHB7-C24	蔗糖磷酸合成酶（SPS）活性检测试剂盒	24T	常量法

一、测定意义

蔗糖是重要的光合产物，是植物体内运输的主要物质，是糖类的暂存形式之一。蔗糖磷酸合成酶以果糖-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。蔗糖磷酸合成酶-蔗糖磷酸酶是蔗糖合成的主要途径。

二、测定原理

蔗糖磷酸合成酶催化果糖-6-磷酸反应生成蔗糖磷酸，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。

三、试剂组成

试剂名称	规格（24T）	保存条件
提取液	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 8 mL×1 瓶	-20℃保存
试剂二	液体 15 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 100 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 35 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂 10 mg×2 支	2-8℃保存

标准品（10mg/mL）的配制：临用前取一支粉剂（10mg）中加入1mL双蒸水，混匀，充分溶解，现用现配。

四、操作步骤

样本前处理

植物组织提取液的制备：取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5～10 的比例（建议称重 0.1g，加入提取液 1mL），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎机冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

测定步骤

- 1、可见分光光度计预热 30min 以上，波长调至 480nm，蒸馏水调零；
- 2、取上清液90μL 在100℃水中煮沸10min；
- 3、将10mg/mL标准品用双蒸水依次稀释至100、80、60、40、20μg/mL，备用；
- 4、样本测定（在 1.5mL EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
样本(μL)	90			

煮沸的样本(μL)		90		
蒸馏水(μL)			90	
标准品(μL)				90
试剂一(μL)	110	110	110	110
30°水浴准确反应 30min				
试剂二(μL)	200	200	200	200
沸水浴中煮沸 10min（盖紧，以防止水分散失），冷却				
试剂三(μL)	1500	1500	1500	1500
试剂四(μL)	500	500	500	500
混匀，80℃水浴保温 20min，冷却后，12000rpm 常温离心 10min。取上清液在 480nm 下测定各管吸光值（标准管和空白管各只要做 1-2 管，每个测定管需要设定一个对照管）。				
计算 $\Delta A_{测} = A_{测定管} - A_{对照管}$ ， $\Delta A_{标} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。				

五、蔗糖磷酸合成酶活性的计算

1、标准曲线的绘制：根据标准管测定值和浓度做标准曲线， $y=kx+b$ ，

y 为标准品浓度， $\mu\text{g/mL}$ ； x 为标准管吸光度 ΔA 。

2、计算样本蔗糖含量，即将 $\Delta A_{测}$ 带入回归方程中（ x ），计算 y 值（ $\mu\text{g/mL}$ ）。

(1) 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 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。

$$\text{SPS (U/mg prot)} = y \times V_{\text{样}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.5 \times y \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本质量计算：

单位的定义：每 g 每分钟催化产生 $1\mu\text{g}$ 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SPS (U/g 质量)} = y \times V_{\text{样}} \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.5 \times y \div W$$

$V_{\text{样}}$ ：反应体系中加入的样本体积， $90\mu\text{L}=0.09\text{mL}$ ； $V_{\text{样总}}$ ：加入的提取液体积， 1mL ； T ：反应时间， 30min ； C_{pr} ：蛋白质浓度， mg/mL ； W ：样本质量，

六、注意事项

- 1、试剂三有刺激性味道，注意防护；
- 2、沸水浴时候，注意离心管的盖子一定需要盖紧。最好是使用带旋盖的管子；
- 3、不同样本蔗糖合成酶活性差异较大，取 2-3 个样本先做预实验。
- 4、沸水浴煮沸时间一定保证足够。

七、公司介绍

陌凡生物科技有限公司是一家专业从事转基因检测、食品安全以及动植物疫病检测为核心业务的生物科技公司。能够为客户提供动植物疫病检测试剂、小分子抗原抗体、植物激素、植物抗体、重组蛋白等优质产品。自主研发了涵盖分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物医学等领域的各种试剂盒。产品覆盖面广，品质可靠。