

上海茁彩生物科技有限公司  
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0792

Size: 50T/24S

## 蔗糖磷酸合成酶 (SPS) 检测试剂盒说明书

### 可见分光光度法

\*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 一、测定意义:

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。

#### 二、测定原理:

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、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、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰、蒸馏水。

#### 四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 10mL×1 瓶	-20℃保存	
试剂二	1000 μg/mL 蔗糖溶液 10mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	液体 40mL×1 瓶	4℃保存	
试剂五	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	

#### 五、操作步骤：

- 测定样品提取：

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。8000g4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

- 测定操作表：

按下表操作：

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℃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，沸水浴 30min，冷却后，在 480nm 下测定各管吸光值。标准管和测定管只要做一管。每个测定管需要设定一个对照管。

## 六、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 $\mu$ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SPS 活性} (\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}) = \{ C \text{ 标准管} \times V1 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \} \\ \div (V1 \times Cpr) \div T = 100 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div Cpr$$

### 2. 按照样本鲜重计算

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

$$\text{SPS 活性} (\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = \{ C \text{ 标准管} \times V1 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \} \\ \div (W \times V1 \div V2) \div T = 100 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W$$

C 标准管：标准管浓度，1000 $\mu$ 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：样本鲜重，g；T：反应时间：10min。