

上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## 蔗糖磷酸合成酶（SPS）试剂盒说明书

### 微量法

正式测定管前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

#### 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。SPS（EC 2.4.1.14）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。

#### 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。

#### 需自备的的仪器和用品

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、离心机、移液器、微量石英比色皿/96孔板、研钵、冰

#### 试剂的组成和配制

| 种类  | 试剂规格                      | 储存条件   | 使用方法及注意事项 |
|-----|---------------------------|--------|-----------|
| 提取液 | 液体 100mL×1 瓶              | 4℃保存   | -         |
| 试剂一 | 液体 2.5mL×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 2mL×1 瓶                | 4℃保存   | -         |
| 试剂四 | 液体 25mL×1 瓶               | 4℃保存   | -         |
| 试剂五 | 液体 6mL×1 瓶                | 4℃保存   | -         |

#### 样品测定的准备：

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。

#### 测定步骤

1、分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至480nm，蒸馏水调零。

2、样本测定（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

| 试剂名称（ $\mu$ L)                 | 测定管 | 对照管 | 标准管 | 空白管 |
|--------------------------------|-----|-----|-----|-----|
| 样本                             | 10  | 10  |     |     |
| 蒸馏水                            |     | 45  | 45  | 55  |
| 试剂二                            |     |     | 10  |     |
| 试剂一                            | 45  |     |     |     |
| 混匀，25℃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，沸水浴30min，冷却后，取200  $\mu$  L至微量石英比色皿或96孔板中，480nm下测定各管吸光值。标准管和空白管只要做一管。每个测定管需要设一个对照管。

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，0.01mL；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。