

蔗糖磷酸合成酶（SPS）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1170

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：植物组织

产品简介

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；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。本试剂盒提供了一种检测 SPS 活性的便捷方法，其原理是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。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃
试剂一	1.25mL	2.5mL	-20℃保存
试剂二	1mL	2mL	4℃保存
试剂三	12.5mL	25mL	4℃保存
试剂四	3mL	6mL	4℃，避光保存
标准品（10mg 蔗糖）	粉剂×1支	粉剂×1支	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 480nm 处的吸光度）

水浴锅、制冰机、低温离心机

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；-20℃保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂四：即用型；使用前，平衡到室温；4℃，避光保存。

标准品：含 10mg 蔗糖；使用前，平衡到室温；4℃保存。使用前加入 1mL 去离子水充分溶解，制备 10mg/mL 蔗糖标准溶液待用；用不完的试剂可 4℃保存一周或分装-20℃保存，避免反复冻融。

样本制备

植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，8,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

产品说明书

注意：建议使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80℃下保存一个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用Bradford 蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 480nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂（ μL ）	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	10	10	0	0
标准品	0	0	10	0
去离子水	0	45	45	55
试剂一	45	0	0	0
混匀，25℃准确水浴 10min				
试剂二	15	15	15	15
沸水浴中煮沸 10min 左右（盖紧，以防止水分散失），冷却				
试剂三	210	210	210	210
试剂四	60	60	60	60

混匀，沸水浴 30min，冷却后，取 200 μL 至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，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。空白孔记为 $A_{\text{空}}$ ，标准孔记为 $A_{\text{标}}$ ，测定孔记为 $A_{\text{测}}$ ，对照孔记为 $A_{\text{对}}$ 。计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测}} - A_{\text{对}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标}} - A_{\text{空}}$

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 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.01 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 0.5，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

SPS 活性计算

1. 按照样本鲜重计算

单位定义：每 g 组织在反应体系中每分钟催化产生 1 μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

SPS 活性 (U/g 鲜重) = $C_{\text{标}} \times A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 5500 \times A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \div W$

2. 按照蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生 1 μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

SPS 活性 (U/mg prot) = $C_{\text{标}} \times A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 5500 \times A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \div C_{\text{pr}}$

$C_{\text{标}}$ ：标准品浓度，10mg/mL=10000 $\mu\text{g/mL}$ ； $V_{\text{反应}}$ ：反应总体积，0.055mL； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中样本体积，0.01mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； W ：样本鲜重，g； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL； T ：反应时间：10min。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1164 葡萄糖检测试剂盒（微量法）
 - PMK1165 果糖检测试剂盒（微量法）
 - PMK1166 蔗糖检测试剂盒（微量法）
 - PMK1167 蔗糖酶检测试剂盒（微量法）
 - PMK1168 蔗糖合成酶（分解方向 SS-I）检测试剂盒（微量法）
 - PMK1169 蔗糖合成酶（合成方向 SS-II）检测试剂盒（微量法）
- 更多产品详情了解，请关注公众号：

