

蔗糖磷酸合成酶 (Sucrose phosphate synthase, SPS) 试剂盒说明书

微量法 100 管/48 样

正式测定前务必取 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。

组成：

产品名称	SC008-100T/48S	Storage
提取液：液体	100ml	4°C
试剂一：液体	2.5ml	-20°C
试剂二：1000µg/ml 蔗糖溶液	10ml	4°C
试剂三：液体	2ml	4°C
试剂四：液体	25ml	4°C
试剂五：液体	6ml	4°C避光
说明书	一份	

自备仪器和用品：

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

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°C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 (μl)	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°C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 200μl 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 1μg 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 1μg 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, 1000μg/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。

