

蔗糖磷酸合成酶(SPS)检测试剂盒说明书

(货号: ADS-W-ZT006-96 微板法 96 样)

有效期: 3 个月

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、盐酸

试剂的组成和配制

提取液: 液体 100mL×1 瓶, 4℃ 保存;

试剂一: 液体 5mL×1 瓶, -20℃ 保存;

试剂二: 1mg/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: 80%盐酸 (V:V), 自备;

试剂五: 液体 6mL×1 瓶, 4℃ 保存;

样品测定的准备:

称取约 0.1g 组织加入 1mL 提取液,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 1.5mL EP 管中依次加入下列试剂):

试剂名称 (μL)	测定管	标准管
试剂一	45	45
样本	10	
试剂二		10

混匀, 25℃ 准确水浴 10min

试剂三	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
试剂五	60	60

混匀, 80℃ 水浴保温 10min, 冷却后, 480nm 下测定各管吸光值。

SPS 活力单位的计算

- 1、按照蛋白浓度计算

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

$$\text{SPS 活性 (U/min/mg prot)} = \text{C 标准管} \times \text{A 测定管} \div \text{A 标准管} \div \text{T} \div \text{Cpr}$$

$$= 100 \times \text{A 测定管} \div \text{A 标准管} \div \text{Cpr}$$

- 2、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 1μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SPS 活性(U/min/g 鲜重)} = \frac{C \text{ 标准管} \times A \text{ 测定管}}{A \text{ 标准管} \times T} \div (W \div V \text{ 样总})$$
$$= 100 \times \frac{A \text{ 测定管}}{A \text{ 标准管}} \div W$$

C 标准管: 标准管浓度, 1000ug/mL; V 样总: 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。

