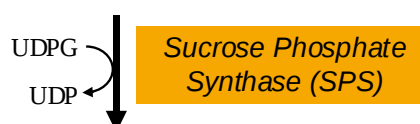




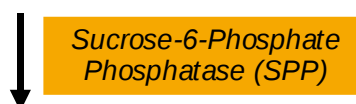
蔗糖磷酸合成酶 (SPS) 活性检测试剂盒

Sucrose Phosphate Synthase (SPS) Activity Assay Kit

Fructose-6-Phosphate



Sucrose-6-Phosphate



Sucrose



Colored Compound

北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



蔗糖磷酸合成酶（SPS）活性检测试剂盒

Sucrose Phosphate Synthase (SPS) Activity Assay Kit

一、产品描述

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（Sucrose Phosphate Synthase, SPS）是蔗糖进入代谢途径所必需的关键酶之一，其活性能够反映蔗糖生物合成的能力，在蔗糖代谢中起着重要的作用。

蔗糖磷酸合成酶催化果糖-6-磷酸生成蔗糖-6-磷酸，蔗糖-6-磷酸在磷酸蔗糖磷酸酶（SPP）的作用下进一步脱磷酸水解形成蔗糖和磷酸根离子，蔗糖与间苯二酚反应生成有色物质，产物在 480 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征蔗糖磷酸合成酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 10 mL×1 瓶	-20°C保存	-
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂四	液体 15 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 蔗糖标准品)	4°C保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 10 mg/mL 蔗糖标准液)
标准稀释液的制备：将 10 mg/mL 蔗糖标准液使用蒸馏水稀释至 3.0、2.0、1.0、0.5、0.25、0.125 mg/mL 即为标准稀释液。			

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (mg/mL)	10	10	2.0	1.0	0.5	0.25
标准液体积 (μL)	150	100	200	200	200	200
蒸馏水体积 (μL)	350	400	200	200	200	200
稀释后浓度 (mg/mL)	3.0	2.0	1.0	0.5	0.25	0.125

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清即为**粗酶液**，置于冰上待测。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 480 nm，蒸馏水调零。

②灭活粗酶液的制备：取适量粗酶液沸水浴处理 5-10 min（密封以防止水分散失），冷却至室温后即为灭活粗酶液，可将待测粗酶液统一进行处理。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
粗酶液	30	-	-	-
灭活粗酶液	-	30	-	-
标准稀释液	-	-	30	-
试剂一	150	150	-	-
蒸馏水	-	-	150	180
充分混匀，25℃准确反应 10 min				
试剂二	50	50	50	50
充分混匀，沸水浴处理 10 min（密封以防止水分散失）				
冰水浴迅速冷却至室温				
试剂三	700	700	700	700
试剂四	200	200	200	200
充分混匀，80℃显色 20 min，冰水浴迅速冷却至室温				

吸光值测定（30 min 内完成测定）：取 1 mL 反应液至 1 mL 玻璃比色皿中，测定 480 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白管只需测定 1-2 次，每个测定管均需设一个对照管。

标准曲线的建立：以 3.0、2.0、1.0、0.5、0.25、0.125 mg/mL 为横坐标（x），以其对应的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为纵坐标（y），绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到 x（mg/mL）。

3.蔗糖磷酸合成酶（SPS）活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1 μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SPS (U/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{样}} \times 10^3}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{100 \times x}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化产生 1 μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SPS (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{样}} \times V_{\text{提}} \times 10^3}{W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{100 \times x}{W}$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.03 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，10 min。

四、注意事项

①若测定吸光值超出标准线性吸光值范围：高于最高值建议将粗酶液适当稀释后再进行测定；低于最低值建议适当增加样本量重新制备粗酶液后再进行测定，计算时相应修改；

②显色完成后应在 30 min 内完成测定；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

