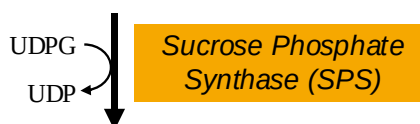




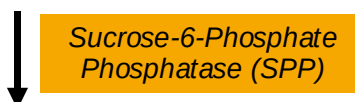
## 蔗糖磷酸合成酶 (SPS) 活性检测试剂盒

### 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 8 mL×1 瓶             | -20°C保存 | -                                         |
| 试剂二                                                                           | 液体 3 mL×1 瓶             | 4°C保存   | -                                         |
| 试剂三                                                                           | 液体 30 mL×1 瓶            | 4°C保存   | -                                         |
| 试剂四                                                                           | 液体 10 mL×1 瓶            | 4°C避光保存 | -                                         |
| 标准品                                                                           | 粉剂×1 支<br>(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<br>(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 5.0、4.0、3.0、2.0、1.0、0.5、0.25 mg/mL 即为标准稀释液。 |                         |         |                                           |

| 序号            | 1   | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   | 7    |
|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| 稀释前浓度 (mg/mL) | 10  | 10  | 10  | 10  | 2.0 | 1.0 | 0.5  |
| 标准液体积 (μL)    | 100 | 100 | 75  | 50  | 100 | 100 | 100  |
| 蒸馏水体积 (μL)    | 100 | 150 | 175 | 200 | 100 | 100 | 100  |
| 稀释后浓度 (mg/mL) | 5.0 | 4.0 | 3.0 | 2.0 | 1.0 | 0.5 | 0.25 |

### 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/酶标仪、96 孔板/微量玻璃比色皿、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/酶标仪预热 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<br>( $\mu\text{L}$ ) | 对照管<br>( $\mu\text{L}$ ) | 标准管<br>( $\mu\text{L}$ ) | 空白管<br>( $\mu\text{L}$ ) |
|--------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 粗酶液                                        | 10                       | -                        | -                        | -                        |
| 灭活粗酶液                                      | -                        | 10                       | -                        | -                        |
| 标准稀释液                                      | -                        | -                        | 10                       | -                        |
| 试剂一                                        | 45                       | 45                       | -                        | -                        |
| 蒸馏水                                        | -                        | -                        | 45                       | 55                       |
| 充分混匀，25℃准确反应 10 min                        |                          |                          |                          |                          |
| 试剂二                                        | 15                       | 15                       | 15                       | 15                       |
| 充分混匀，沸水浴处理 10 min（密封以防止水分散失）<br>冰水浴迅速冷却至室温 |                          |                          |                          |                          |
| 试剂三                                        | 210                      | 210                      | 210                      | 210                      |
| 试剂四                                        | 60                       | 60                       | 60                       | 60                       |
| 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 200  $\mu\text{L}$  反应液至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，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 5.0、4.0、3.0、2.0、1.0、0.5、0.25 mg/mL 为横坐标（x），以其对应的  $\Delta A$  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，0.01 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.

