

蔗糖磷酸合成酶(SPS)活性检测试剂盒

Sucrose Phosphoric Acid Synthetase Assay Kit

微量法

货号: AK235

规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液 ES14	100mL×1 瓶	4℃ 保存;
AK235-A	2.5mL×1 瓶	-20℃ 保存;
AK235-B	粉剂×1 瓶	4℃ 保存; 临用前加 1 mL 水, 配制成 10 mg/mL 溶液, 再将其用蒸馏水稀释为 500μg/mL 备用。
AK235-C	2mL×1 瓶	4℃ 保存;
AK235-D	25mL×1 瓶	4℃ 保存;
AK235-E	6mL×1 瓶	4℃ 保存;

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

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。蔗糖磷酸合成酶 (Sucrose phosphate synthase, 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。

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。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、离心机、移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

粗酶提取:

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 ES14), 进行冰浴匀浆。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. 在 EP 管中依次加入下列试剂

试剂名称	测定管 (ul)	对照管 (ul)	标准管 (ul)	空白管 (ul)
上清	10	10		
蒸馏水		45	45	55
AK235-B			10	
AK235-A	45			
混匀, 25℃ 准确水浴 10min				
AK235-C	15	15	15	15
沸水浴中煮沸 10min 左右 (盖紧, 以防止水分散失), 冷却				
AK235-D	210	210	210	210
AK235-E	60	60	60	60
混匀, 80℃ 水浴保温 20min, 冷却, 12000rpm 常温离心 10min, 480nm 下测定各管吸光值				

注意：标准管和空白管只要做 1-2 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 1 μ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

SPS 活性 (U/mg prot) = {C 标准管 \times V1 \times (A 测定管-A 对照管) \div (A 标准管-A 空白管)}
 \div (V1 \times Cpr) \div T=50 \times (A 测定管-A 对照管) \div (A 标准管-A 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 1 μ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

SPS 活性 (U/g 鲜重) = {C 标准管 \times V1 \times (A 测定管-A 对照管) \div (A 标准管-A 空白管)}
 \div (W \times V1 \div V2) \div T=50 \times (A 测定管-A 对照管) \div (A 标准管-A 空白管) \div W

注： C 标准管：标准管浓度，500 μ g/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。