

Sucrose Phosphate Synthase (SPS) Activity Assay Kit

蔗糖磷酸合成酶(SPS)活性检测试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL871B	蔗糖磷酸合成酶(SPS)活性检测试剂盒	48T

产品简介:

蔗糖磷酸合成酶 (EC 2.4.1.14) 主要存在细胞质内, 参与植物的生长发育, 是植物体内催化蔗糖合成的关键酶之一。蔗糖磷酸合成酶 (SPS) 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。

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生成有色物质, 在 480nm 下有特征吸收峰, 酶活力大小与颜色的深浅成正比。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 2.1mL×1 支	-20℃保存	
试剂二	液体 1mL×1 支	4℃保存	
试剂三	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	粉末×2 支	4℃保存	临用前甩几下使粉剂落入底部, 每支加入 4mL 蒸馏水充分溶解, 现配现用, 一周内用完。
标准品	粉末×1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂

使用方法:

建议正式实验前, 选取 2 个样本做预测定, 了解实验样品情况, 熟悉流程, 避免样本和试剂浪费。

一、样本准备:

1. 组织样本:

- 称取约 0.1g 组织 (水分充足的样本可取 0.5g), 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;
- 10000-12000g, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若样本含糖量高, 可引起 A 对照值较大如超过 1.6, 即检测背景值过高会影响检测, 可在样本制备过程中增加除糖步骤: 取约 0.1g 组织 (水分充足的样本可取 0.5g), 加入 1mL 经预冷的 95%乙醇冰浴匀浆, 4℃放置 10min; 10000-12000g, 4℃离心 5min; 弃上清, 留沉淀, 向沉淀中加入经预冷的 80%乙醇混匀, 4℃放置 5min; 10000-12000g, 4℃离心 5min; 弃上清, 留沉淀。再向沉淀中加入 1mL 经预冷提取液涡旋混匀, 4℃放置 10min; 10000-12000g, 4℃离心 10min; 留上清, 弃沉淀。上清液置冰上待测。

2. 液体样本:

直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

二、样品测定:

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



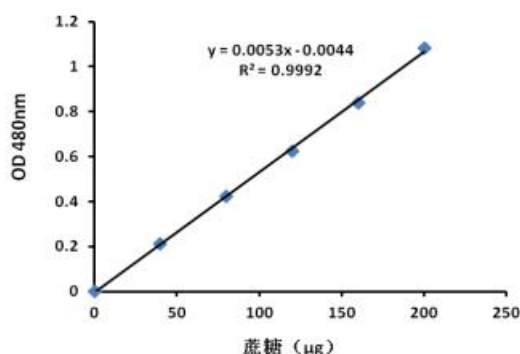
1. 酶标仪预热 30min，设定波长到 480nm 零。
2. 在离心管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
试剂一	40	-
蒸馏水	-	40
样本	20	20
37°C水浴 20min		
试剂二	10	10
试剂二需直接加到反应液里面，且务必混匀（可用枪头吸打），95°C水浴中煮沸 10min（可用封口膜缠紧，防止水分散失），冷却至室温。		
试剂三	200	200
试剂四	60	60
混匀，95°C水浴 20min，冷却后取 200μL 至 96 孔板中，480nm 下读取吸光值 A。ΔA=A 测定-A 对照（每个测定管需设一个对照管）。		

【注】：若ΔA 值过小如在零附近徘徊，可延长 37°C水浴时间 T（如 40min 或更长）或增加样本取样量 W（如增至 0.2g），或者增加样本的加样体积 V1（如 40μL，则试剂三相应减少），相应的变量重新代入计算公式计算。

三、结果计算

1. 标准曲线方程：y = 0.0053x - 0.0044；x 是标准品质量（μg），y 是ΔA。



2. 按照蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SPS 活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot})=[(\Delta A+0.0044)\div 0.0053]\div(V1\times Cpr)\div T$$

$$=471.7\times(\Delta A+0.0044)\div Cpr$$

3. 按照样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每分钟催化产生 1μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SPS 活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重})=[(\Delta A+0.0044)\div 0.0053]\div(V1\div V\times W)\div T$$

$$=471.7\times(\Delta A+0.0044)\div W$$

4. 按照液体体积计算：

单位定义：每毫升液体每分钟催化产生 1μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{SPS 活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mL})=[(\Delta A+0.0044)\div 0.0053]\div V\div T$$

$$=471.7\times(\Delta A+0.0044)\div W$$

V---加入提取液体积，1 mL

V1---加入样本体积：0.02mL

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



T---反应时间, 20min

W---样本鲜重, g

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL

附: 标准曲线制作过程:

- 1 制备标准品母液 (10mg/mL): 向标准品离心管里面加入 1mL 蒸馏水 (母液需在两天内用且-20°C保存)。
- 2 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品: 0, 1.6, 3.2, 4.8, 6.4, 8. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 按照: : 20μL 标准品+40μL 蒸馏水+10μL 试剂二+200μL 试剂三+60μL 试剂四, 依次加样操作, 95°C水浴 20min, 冷却后, 取 200μL 至 96 孔板中, 480nm 下测定, 根据结果即可制作标准曲线。

注意事项:

- 1、因提取液中含有蛋白质沉淀剂, 因此上清液不能用于蛋白质浓度测定。如需测定蛋白质浓度, 需另取组织测定。
- 2、本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
- 3、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

-20°C保存三个月。

