

植物蔗糖磷酸合成酶（SPS）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHB7-C24	蔗糖磷酸合成酶（SPS）活性检测试剂盒	24T	常量法
PMHB7-C48		48T	

一、测定意义：

蔗糖是重要的光合产物，是植物体内运输的主要物质，是糖类的暂存形式之一。蔗糖磷酸合成酶以果糖-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。蔗糖磷酸合成酶-蔗糖磷酸酶是蔗糖合成的主要途径。

二、测定原理：

蔗糖磷酸合成酶催化果糖-6-磷酸反应生成蔗糖磷酸，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。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量（24T）	试剂装量（48T）	保存条件
提取液	液体 30 mL×1 瓶	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 8 mL×1 瓶	液体 8 mL×1 瓶	-20℃保存
试剂二	液体 15 mL×1 瓶	液体 15 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 100 mL×1 瓶	液体 100 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 35 mL×1 瓶	液体 35 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品（10 mg）	粉剂 ×1 支	粉剂×2 支	2-8℃保存
标准品（10mg/mL）的配制： 临用前取一支粉剂（10mg）中加入 1mL 双蒸水，混匀，充分溶解，现用现配。			

四、操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，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），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 480nm，蒸馏水调零；
- 2、取上清液 90μL 在 100℃水中煮沸 10min；
- 3、将 10mg/mL 标准品用双蒸水依次稀释至 1000、800、600、400、200μg/mL，备用；
- 4、操作表：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
样本(μL)	90	-	-	-
煮沸的样本(μL)	-	90	-	-
蒸馏水(μL)	-	-	90	-
标准品(μL)	-	-	-	90
试剂一(μL)	110	110	110	110
30°水浴准确反应 30min				
试剂二(μL)	200	200	200	200
沸水浴中煮沸 10min（盖紧，以防止水分散失），冷却				
试剂三(μL)	1500	1500	1500	1500
试剂四(μL)	500	500	500	500
混匀，80℃水浴保温 20min，冷却后，12000rpm 常温离心 10min。取 1mL 上清液在波长 480nm 下测定各管吸光值。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。（标准管和空白管各只要做 1-2 管，每个测定管需要设定一个对照管）				

五、植物样本中蔗糖磷酸合成酶（SPS）活性计算：

- 1、标准曲线的绘制：据标准管的浓度（y，μg/mL）和吸光度 $\Delta A_{\text{标准}}$ （x， $\Delta A_{\text{标准}}$ ），建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ （x， $\Delta A_{\text{测定}}$ ）带入公式计算样本浓度（y，μg/mL）。
- 2、按样本质量计算：

单位定义：每 g 每分钟催化产生 1 μ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

计算公式：
$$\text{SPS } (\mu\text{g}/\text{min}/\text{g}) = y \times V_{\text{样}} \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T$$
$$= 0.03 \times y \div W$$

3、按蛋白浓度计算：

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。

计算公式：
$$\text{SPS } (\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}) = y \times V_{\text{样}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T$$
$$= 0.03 \times y \div C_{\text{pr}}$$

$V_{\text{样}}$ ：反应体系中加入的样本体积，90 μ L=0.09mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入的提取液体积，1mL；T：反应时间，30min； C_{pr} ：蛋白质浓度，mg/mL；
W：样本质量，g。

六、注意事项：

- 1、试剂三有刺激性味道，注意防护；
- 2、沸水浴时候，注意离心管的盖子一定需要盖紧。最好是使用带旋盖的管子；
- 3、不同样本蔗糖合成酶活性差异较大，取 2-3 个样本先做预实验。
- 4、沸水浴煮沸时间一定保证足够。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日