

蔗糖磷酸合成酶(SPS)活性检测试剂盒(微量法)

产品货号: BA1527

产品规格: 50管/24样

产品简介:

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(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。

注意:实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成:

产品名称	规格	保存条件
提取液	液体50mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体2.5mL×1瓶	-20℃
试剂二	粉剂10mg×1支	2-8℃
试剂三	液体2mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体25mL×1瓶	2-8℃
试剂五	液体10mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制:

试剂二: 临用前加1mL水,配制成10mg/mL蔗糖溶液,再将其用蒸馏水稀释为500μg/mL备用。

自备材料:

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、冰、蒸馏水。

操作步骤 (仅供参考):

一、样本处理(可适当调整待测样本量,具体比例可以参考文献)

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),进行冰浴匀浆。8000g 4 \mathbb{C} 离心10min,取上清,置冰上待测。

二、测定步骤

- 1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上,调节波长至480nm,蒸馏水调零。
- 2. 样本测定(在1.5mL EP管中依次加入下列试剂):

试剂名称(μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	10	10	-	-
蒸馏水	-	45	45	55
试剂一	45	-	-	-
试剂二	-	-	10	-



地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号 免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799 Q Q:807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com



混匀, 25℃准确水浴 10min					
试剂三	15	15	15	15	
沸水浴中煮沸10min左右(盖紧,以防止水分散失),冷却					
试剂四	210	210	210	210	
试剂五	60	60	60	60	

混匀,80°C水浴保温20min,冷却后,取 200μ L在480nm下测定各管吸光值。计算 ΔA 测=A测定管-A对照管, ΔA 标=A标准管-A空白管。

三、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1µg蔗糖定义为一个酶活力单位。

SPS活性(U/mg prot) = (C标准管×V1×ΔA测÷ΔA标)÷(V1×Cpr)÷T=50×ΔA测÷ΔA标÷Cpr

2. 按照样本质量计算

单位定义:每g组织每分钟催化产生1µg蔗糖定义为一个酶活力单位。

SPS活性 (U/g质量) = (C标准管×V1×ΔA测÷ΔA标)÷ (W×V1÷V2)÷T=50×ΔA测÷ΔA标÷W C标准管:标准管浓度,500μg/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:样本质量,g; T:反应时间,10min。

注意事项:

尽量在30min内完成测定。