

蔗糖磷酸合成酶（SPS）活性检测试剂盒说明书

微量法

货号: BC0605

规格: 100T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

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

溶液的配制：

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

产品说明：

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。

需自备的仪器和用品：

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/匀浆器、冰

操作步骤：

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℃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，分光光度计蒸馏水调零。

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	-
混匀，25℃准确水浴 10min				
试剂三	15	15	15	15
沸水浴中煮沸 10min 左右（缠封口膜，防止爆盖），冷却				
试剂四	210	210	210	210
试剂五	60	60	60	60

混匀，80℃水浴（缠封口膜，防止爆盖）保温 20min，冷却后，12000rpm 常温离心 10min。取 200μL 上清液在 480nm 下测定各管吸光值。计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

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。

$$\text{SPS 活性(U/mg prot)} = (C_{\text{标准管}} \times V_1 \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div (V_1 \times C_{\text{pr}}) \div T = 50 \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \div C_{\text{pr}}$$

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。

$$\text{SPS 活性(U/g 质量)} = (C_{\text{标准管}} \times V_1 \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div (W \times V_1 \div V_2) \div T = 50 \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \div W$$

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。

相关发表文献：

[1] Han W, Wang Y, Li H, Diao S, Suo Y, Li T, Sun P, Li F, Fu J. Transcriptome and Metabolome Reveal Distinct Sugar Accumulation Pattern between PCNA and PCA Mature Persimmon Fruit. *Int J Mol Sci.* 2023 May 11;24(10):8599. doi: 10.3390/ijms24108599. PMID: 37239943; PMCID: PMC10217969.

[2] Zhang C, Chen X, Liu W, Ji Y, Yang Y, Chen J, Li P, Li D. Differential expression analysis of sugar accumulation-related genes during chestnut nut development. *J Plant Physiol.* 2023 Mar;282:153918. doi: 10.1016/j.jplph.2023.153918. Epub 2023 Jan 18. PMID: 36738603.

[3] Shi Y, Zhao Y, Yao Q, Liu F, Li X, Jin X, Zhang Y, Ahammed GJ. Comparative Physiological and Transcriptomic Analyses Reveal Mechanisms of Exogenous Spermidine-Induced Tolerance to Low-Iron Stress in *Solanum lycopersicum* L. *Antioxidants (Basel).* 2022 Jun 27;11(7):1260. doi: 10.3390/antiox11071260. PMID: 35883751; PMCID: PMC9312307.

[4] Wu J, Chen H, Chen W, Zhong Q, Zhang M, Chen W. Effect of ultrasonic treatment on the activity of sugar metabolism relative enzymes and quality of coconut water. *Ultrason Sonochem.* 2021 Nov;79:105780. doi: 10.1016/j.ultsonch.2021.105780. Epub 2021 Oct 6. PMID: 34628309; PMCID: PMC8501503.

[5] Kang L, Wu Y, Zhang J, An Q, Zhou C, Li D, Pan C. Nano-selenium enhances the antioxidant capacity, organic acids and cucurbitacin B in melon (*Cucumis melo* L.) plants. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2022 Aug;241:113777. doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.113777. Epub 2022 Jun 20. PMID: 35738099.

参考文献：



[1] Schrader S, Sauter J J. Seasonal changes of sucrose-phosphate synthase and sucrose synthase activities in poplar wood (*Populus× canadensis* Moench 'robusta') and their possible role in carbohydrate metabolism[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2002, 159(8): 833-843.

[2] Steven C Huber. Interspecific Variation in Activity and Regulation of Leaf Sucrose Phosphate Synthetase [J]. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 1981, 102(5): 443-450.

相关系列产品:

- BC0580/BC0585 蔗糖磷酸合成酶 (SS) 活性检测试剂盒
- BC2460/BC2465 植物蔗糖含量检测试剂盒
- BC0560/BC0565 酸性转化酶 (AI) 活性检测试剂盒
- BC0570/BC0575 中性转化酶 (NI) 活性检测试剂盒
- BC4310/BC4315 蔗糖合成酶 (分解方向, SS-I) 活性检测试剂盒
- BC4320/BC4325 细胞壁结合酸性转化酶 (CWI) 活性检测试剂盒

