

酸性蛋白酶(ACP)活性检测试剂盒

Acidic Proteinase Assay Kit

分光光度法

货号: AK154

规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK154-A	60ml ×1 瓶	4°C保存
AK154-B	粉剂×1 瓶	4°C保存; 临用前加 10 ml 蒸馏水溶解, 3 天内有效。
AK154-C	粉剂×1 瓶	4°C避光保存; 临用前加入 10 mL AK154-A, 沸水浴溶解, 3 天内有效。
AK154-D	粉剂×1 瓶	4°C保存; 临用前加入 50 ml 蒸馏水溶解, 3 天内有效
AK154-E	液体×1 瓶	4°C保存
AK154-标准品	液体×1 支 (0.25umol/mL)	4°C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: 酸性蛋白酶 (Acidic Proteinase, ACP) 是一种在酸性环境下催化蛋白质水解的酶。该酶主要用于酒精发酵、啤酒酿造、毛皮软化、果酒澄清、酱油酿造、饲料等。

原理: 酸性条件下, ACP 催化酪蛋白水解产生酪氨酸; 在碱性条件下, 酪氨酸还原磷钼酸化合物生成钨蓝; 钨蓝在 680nm 有特征吸收峰, 通过测定其吸光度增加, 来计算 ACP 活性。

自备用品:

可见分光光度计、水浴锅、磁力搅拌器、可调式移液枪、1mL 玻璃比色皿、1.5 mL EP 管和蒸馏水。

粗酶液提取:

1. 组织: 按照组织质量 (g): AK154-A 体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL AK154-A) 冰浴匀浆, 8000g, 4°C 离心 10min, 取上清, 即粗酶液。
2. 血清或培养液: 直接测定。
3. 细菌、真菌: 按照细胞数量 (10⁴ 个): AK154-A 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL AK154-A), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 8000g, 4°C, 离心 10min, 取上清置于冰上待测。

测定操作:

1. 分光光度计预热 30min, 调节波长到 680 nm, 蒸馏水调零。
2. AK154-B、AK154-C 和 AK154-D 置于 30°C 水浴保温 30min。
3. 在 EP 管中按顺序加入下列试剂:

试剂名称	对照管	测定管	空白管	标准管
粗酶液	100ul	100ul		
AK154-B	200ul	200ul		
混匀后置于 30°C 水浴保温 10min				
AK154-C	200ul	200ul		
混匀后 8000g, 4°C 离心 10min, 留取上清				

上清液（离心后留	200ul	200ul		
蒸馏水			200ul	
标准品				200ul
AK154-D	1000ul	1000ul	1000ul	1000ul
AK154-E	200ul	200ul	200ul	200ul
混匀后置于 30℃水浴保温 20min, 于 680nm 测定光吸收				

注意：1.测定管与空白管不同，先加 AK154-C，后加 AK154-B

2.空白管和标准管只需要测定一次。

计算公式：

1. 按照蛋白浓度计算

ACP 活性单位定义：30℃每毫克蛋白每分钟催化水解产生 1nmol 酪氨酸为 1 个酶活单位。

ACP 活性 (nmol/min/mg prot) = C 标准品×(A 测定管-A 对照管)÷(A 标准管-A 空白管)×稀释倍数÷(Cpr×V1)÷T = 625×(A 测定管-A 对照管)÷(A 标准管-A 空白管)÷Cpr

注： C 标准品：0.25 μ mol/mL 标准酪氨酸溶液；稀释倍数：(100+200+200) ÷ 200=2.5；

Cpr：粗酶液蛋白质浓度 (mg/mL)，注意该粗酶液不能直接用于蛋白质含量测定，需要另外测定；建议称取同样质量的样品，加入 1mL 蒸馏水匀浆提取离心后，用本公司蛋白质含量测定试剂盒测定；V1：加入反应体系中粗酶液体积 (mL)，100 μ L=0.1 mL；T：催化反应时间 (min)，10min。

2. 按照样本质量计算

ACP 活性单位定义：30℃每克样品每分钟催化水解产生 1 nmol 酪氨酸为 1 个酶活单位。

ACP 活性 (nmol/min/g) = C 标准品×(A 测定管-A 对照管)÷(A 标准管-A 空白管)×稀释倍数÷(W×V1÷V2)÷T = 625×(A 测定管-A 对照管)÷(A 标准管-A 空白管)÷W

注： C 标准品：0.25 μ mol/mL 标准酪氨酸溶液；稀释倍数：(100+200+200) ÷ 200=2.5；W：样品质量 (g)；V1：加入反应体系中粗酶液体积 (mL)，100 μ L=0.1 mL；V2：粗酶液总体积 (mL)，1mL；T：催化反应时间 (min)，10min。

3. 按照液体体积计算

ACP 活性单位定义：30℃每毫升样品每分钟催化水解产生 1 nmol 酪氨酸为 1 个酶活单位。

ACP 活性 (nmol/min /mL) =C 标准品×(A 测定管-A 对照管)÷(A 标准管-A 空白管)×稀释倍数÷V1÷T = 625×(A 测定管-A 对照管)÷(A 标准管-A 空白管)

注： C 标准品：0.25 umol/mL 标准酪氨酸溶液；稀释倍数：(100+200+200) ÷ 200=2.5；V1：加入反应体系中血清或培养液体积，100 μ L=0.1 mL；T：催化反应时间，10min。

4. 按照细胞数量计算

ACP 活性单位定义：30℃每 104 个细胞每分钟催化水解产生 1 nmol 酪氨酸为 1 个酶活单位。

ACP 活性 (nmol/min/104 cell) =C 标准品×(A 测定管-A 对照管)÷(A 标准管-A 空白管)×稀释倍数÷(细胞数量×V1÷V2)÷T = 625×(A 测定管-A 对照管)÷(A 标准管-A 空白管)÷细胞数量

注： C 标准品：0.25 μ mol/mL 标准酪氨酸溶液；稀释倍数：(100+200+200) ÷ 200=2.5；V1：加入反应体系中粗酶液体积，100 μ L=0.1 mL；V2：粗酶液总体积，1mL；T：催化反应时间，10min。