

碱性蛋白酶（AKP）活性检测试剂盒（微量法）

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1169

产品规格：100管/48样

产品简介：

AKP是指在碱性条件下催化蛋白质肽键水解的酶类，属于丝氨酸蛋白酶。此外，该酶还能够水解酯键、酰胺键，具有转酯及转肽的功能。该酶是主要工业用酶之一，广泛应用于制药、丝绸、食品、制革等行业。

在碱性条件下，AKP水解酪蛋白生成酪氨酸；在碱性条件下，酪氨酸还原磷钼酸生成钨蓝；钨蓝在680nm有特征吸收峰，测定 680nm吸光度增加速率，来计算AKP活性。

产品内容：

提取液：液体55mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：粉剂×1瓶，4℃保存。临用前加4mL蒸馏水溶解。

试剂二：粉剂×1瓶，4℃避光保存。临用前加入4mL提取液，沸水浴中磁力搅拌溶解。

试剂三：液体20ml×1瓶，4℃保存。

试剂四：液体4mL×1瓶，4℃保存。

标准品：液体1mL×1支，0.25 μ mol/mL 标准酪氨酸溶液，4℃保存。

需自备的仪器和用品：

研钵、台式离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、水浴锅、磁力搅拌器、可调式移液枪、1.5 mL EP管和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

称取约0.1g组织，加入1mL提取液，冰上充分研磨，10000rpm 4℃离心10min，取上清液，即粗酶液，置冰上待测。或直接称取0.1g酶制品，加入1mL提取液，置冰上待测。

二、测定：

1、分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长到680 nm，蒸馏水调零。

2、试剂一、试剂二和试剂三置于40℃水浴保温30min 以上。

3、样本测定（在1.5mLEP 管中依次加入下列试剂）

试剂名称（ μ L）	对照管	测定管	空白管	标准管
粗酶液	20	20		
试剂一	40			
试剂二		40		
混匀后40℃水浴保温10min				
试剂一		40		
试剂二	40			
混匀后10000rpm 4℃离心10min，取上清				
上清	40	40		



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

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

蒸馏水			40	
标准品				40
试剂三	200	200	200	200
试剂四	40	40	40	40
混匀后40℃水浴保温20min				

取200 μ L于微量玻璃比色皿/96孔板，于680nm测定光吸收，分别记为A对照管、A测定管、A空白管、A标准管。

三、碱性蛋白酶活性计算：

(1) 按蛋白浓度计算

AKP 活性单位 (U) 定义：40℃每毫克蛋白每分钟催化水解产生1 μ mol酪氨酸为一个酶活单位。

$$\text{AKP 活性 (U/mg prot)} = \frac{C_{\text{标准品}} \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times V_1 \div (C_{\text{pr}} \times V_2) \div T}{= 0.625 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div C_{\text{pr}}}$$

(2) 按样本鲜重计算

AKP 活性单位 (U) 定义：40℃每克样品每分钟催化水解产生1 μ mol酪氨酸为一个酶活单位。

$$\text{AKP 活性 (U/g)} = \frac{C_{\text{标准品}} \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times V_1 \div (W \times V_2 \div V_3) \div T}{= 0.625 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W}$$

C标准品：0.25 μ mol/mL标准酪氨酸溶液； Cpr：粗酶液蛋白质浓度 (mg/mL)； W：样品质量 (g)； V1：酶促反应总体积 (mL)，0.1mL； V2：加入反应体系中粗酶液体积 (mL)，2 $\times 10^{-2}$ mL； V3：粗酶液总体积 (mL)，1mL； T：催化反应时间 (min)，10min。

注意：若反应较弱，(A测定管-A对照管)差值较小，可适当延长反应时间(20-30min)，即第一步水浴时间，最后计算酶活时对公式进行修改。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司
 Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

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