

酸性蛋白酶（ACP）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1281

产品规格：100管/48样

产品简介：

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。

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。

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55mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体5mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂三	液体20mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体4mL×1瓶	2-8℃
试剂五	液体5mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1mL×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入4mL试剂五，沸水浴中磁力搅拌溶解；
2. 标准品：20 μ mol/mL标准酪氨酸。

需自备的仪器和用品：

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

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）

称约0.1g组织，加入1mL提取液，冰上充分研磨，10000rpm 4℃离心10min，取上清，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、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至680nm，蒸馏水调零。
2. 试剂一、试剂二和试剂三置于30℃水浴保温30min以上。
3. 标准溶液的配制：临用前将20 μ mol/mL标准液用蒸馏水稀释80倍至0.25 μ mol/mL标准溶液使用，现用现配。
4. 样本测定（1.5mLEP管中分别加入下列试剂）



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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂名称 (μL)	对照管	测定管	空白管	标准管
粗酶液	20	20	-	-
提取液	20	20		
试剂一	40	-		
试剂二	-	20		
混匀后 30°C水浴保温 10min				
试剂一	-	40		
试剂二	20	-		
混匀后 10000rpm 4°C离心 10min, 取上清				
上清	40	40		
蒸馏水	-	-		
标准品	-	-	40	40
试剂三	200	200	200	200
试剂四	40	40	40	40
混匀后 30°C水浴保温 20min				

取 200μL 于微量玻璃比色皿/96 孔板中, 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、ACP 活性计算

1. 按样本蛋白浓度计算

酶活单位定义: 30°C每毫克蛋白每分钟催化水解产生 1μmol 酪氨酸为一个酶活单位。

$$\text{ACP 酶活 (U/mg prot)} = \frac{C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定} - A \text{ 对照}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times V1 \div (Cpr \times V2) \div T}{= 0.125 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 对照}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div Cpr}$$

2. 按样本质量计算

酶活单位定义: 30°C每克样本每分钟催化水解产生 1μmol 酪氨酸为一个酶活单位。

$$\text{ACP 酶活 (U/g 质量)} = \frac{C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定} - A \text{ 对照}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times V1 \div (W \times V2 \div V3) \div T}{= 0.125 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 对照}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W}$$

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

注意事项:

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。

实验实例:

1. 取0.1g小鼠肝脏加入1mL提取液冰上充分研磨, 10000rpm 4°C离心10min, 取上清, 置冰上, 之后按照测定步骤操作, 使用96孔板测得计算A测定管=0.303, A对照管=0.271, A标准管=0.253, A空白管=0.044, 按样本质量计算酶活得:

$$\text{ACP活性 (U/g质量)} = 0.125 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W = 0.191 \text{ U/g质量。}$$



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