

酸性蛋白酶（ACP）活性检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1280

产品规格：50管/24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：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体35mL×1瓶	2-8°C
试剂一	液体10mL×1瓶	2-8°C
试剂二	粉剂×1瓶	2-8°C
试剂三	液体50mL×1瓶	2-8°C
试剂四	液体10mL×1瓶	2-8°C
试剂五	液体15mL×1瓶	2-8°C
标准品	液体1mL×1支	2-8°C

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入10mL提取液，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、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、冰、蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理：

称约0.1g组织，加入1mL提取液，冰上充分研磨，10000rpm 4°C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. 分光光度计预热30min以上，调节波长到680nm，蒸馏水调零。
2. 试剂一、试剂二和试剂三置于30°C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（在1.5mLEP管中依次加入下列试剂）



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

Q Q：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	100	100		
提取液	100	100		
试剂一	200			
试剂二		100		
混匀后30°C水浴保温10min				
试剂一		200		
试剂二	100			
混匀后10000rpm 4°C离心10min, 取上清				
上清	200	200		
蒸馏水			200	
标准品				200
试剂三	1000	1000	1000	1000
试剂四	200	200	200	200
混匀后30°C水浴保温20min				

取1mL于1mL玻璃比色皿中, 在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

酶活性单位 (U) 定义: 30°C每毫克蛋白每分钟催化水解产生1μmol酪氨酸

$$\text{ACP酶活 (U/mg prot)} = \frac{C_{\text{标准品}} \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \times V_1 \div (C_{\text{pr}} \times V_2) \div T}{= 0.125 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \div C_{\text{pr}}}$$

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。

$$\text{ACP酶活 (U/g质量)} = \frac{C_{\text{标准品}} \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \times V_1 \div (W \times V_2 \div V_3) \div T}{= 0.125 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \div W}$$

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, 0.5mL; V2: 加入反应体系中粗酶液体积, 0.1mL; 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, 即 (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, 测得计算A测定管=0.537, A对照管=0.481, A标准管=0.39, A空白管=0.005, 按样本质量计算酶活得:

$$\text{ACP活性 (U/g质量)} = 0.125 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \div W = 0.182 \text{ U/g质量。}$$



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