

使用说明书

Instruction Manual

酸性蛋白酶(ACP)活性检测试剂盒（微量法） Acidic Proteinase Assay Kit (Microanalysis)

产品描述

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。

检测原理

酸性条件下，ACP 催化酪蛋白水解产生酪氨酸；在碱性条件下，酪氨酸还原磷钨酸化合物生成钨蓝；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。

产品组成及储存条件

100T/48S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0010M-A	60mL×1 瓶	4℃保存。
CB0010M-B	粉剂×1 瓶	4℃保存；临用前加 4mL 蒸馏水溶解，3 天内有效。
CB0010M-C	粉剂×1 瓶	4℃避光保存；临用前加入 4 mL CB0010M-A，沸水浴中磁力搅拌溶解，3 天内有效。
CB0010M-D	粉剂×1 瓶	4℃保存；临用前加入 20 mL 蒸馏水溶解，3 天内有效。
CB0010M-E	4mL×1 瓶	4℃保存。
CB0010M-Standard	1mL×1 支(0.25μmol/mL)	4℃保存。

注：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

操作说明

一、自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、磁力搅拌器、可调式移液枪、微量玻璃比色皿/96 孔板、蒸馏水等。

二、粗酶液提取：

- 组织：按照组织质量 (g)：CB0010M-A 体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL CB0010M-A）冰浴匀浆，8000g，4℃离心 10min，取上清，即粗酶液。
- 血清或培养液：直接测定。
- 细菌、真菌：按照细胞数量 (10⁴ 个)：CB0010M-A 体积 (mL) 为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL CB0010M-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℃，离心 10min，取上清置于冰上待测。

三、测定操作：

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长到 680 nm，蒸馏水调零。
2. CB0010M-B、CB0010M-C 和 CB0010M-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 (μL)	测定管 (μL)	空白管 (μL)	标准管 (μL)
粗酶液	20	20		
CB0010M-B	40			
CB0010M-C		40		
混匀后置于 30°C水浴保温 10min。				
CB0010M-B		40		
CB0010M-C	40			
混匀后 8000g， 4°C离心 10min，取上清。				
上清液（离心后获取）	40	40		
蒸馏水			40	
标准品				40
CB0010M-D	200	200	200	200
CB0010M-E	40	40	40	40
混匀后置于 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。				

- 注：**1. 测定管与空白管不同，先加 CB0010M-C，后加 CB0010M-B。
2. 空白管和标准管只需要测 1-2 次。

四、计算公式：

1. 按照蛋白浓度计算

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

ACP 活性 (U/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= 3.125×(A 测定管-A 对照管)÷(A 标准管-A 空白管)÷Cpr

2. 按照样本质量计算

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

ACP 活性 (U/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 = 3.125×(A 测定管-A 对照管)÷(A 标准管-A 空白管)÷W

3. 按照液体体积计算

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

ACP 活性 (U/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 = 3.125×(A 测定管-A 对照管)÷(A 标准管-A 空白管)

4. 按照细胞数量计算

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

ACP 活性 (U/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 = 3.125×(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 μmol/mL 标准酪氨酸溶液；稀释倍数:(20+40+40)÷40=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 TargetMol 蛋白质含量测定试剂盒测定(C0050)；W: 样品质量 (g)；V1: 加入反应体系中粗酶液体积 (mL)，20μL=2×10⁻² mL；V2: 粗酶液总体积 (mL)，1mL；T: 催化反应时间 (min)，10min。

■ 注意事项

1. 蛋白定量测定，建议使用 TargetMol 生产的 BCA Protein Quantification Kit (C0050)。
2. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

