

使用说明书

Instruction Manual

酸性蛋白酶(ACP)活性检测试剂盒（分光光度法） Acidic Proteinase Assay Kit (Spectrophotometry)

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。

产品组成及储存条件

50T/24S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0010S-A	35mL ×1 瓶	4℃保存。
CB0010S-B	粉剂×1 瓶	4℃保存；临用前加 10 mL 蒸馏水溶解，3 天内有效。
CB0010S-C	粉剂×1 瓶	4℃避光保存；临用前加入 10 mL CB0010S-A，沸水浴溶解，3 天内有效。
CB0010S-D	粉剂×1 瓶	4℃保存；临用前加入 50 mL 蒸馏水溶解，3 天内有效。
CB0010S-E	10mL×1 瓶	4℃保存。
CB0010S-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、水浴锅、磁力搅拌器、可调式移液枪、研钵/匀浆器、1mL 玻璃比色皿、EP 管和蒸馏水。

二、粗酶液提取：

- 组织：按照组织质量 (g)：CB0010S-A 体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL CB0010S-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 (10^4 个)：CB0010S-A 体积 (mL) 为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL CB0010S-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. 分光光度计预热 30min，调节波长到 680 nm，蒸馏水调零。
2. CB0010S-B、CB0010S-C 和 CB0010S-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	100	100		
CB0010S-B	200			
CB0010S-C		200		
混匀后置于 30°C水浴保温 10min。				
CB0010S-B		200		
CB0010S-C	200			
混匀后 8000g，4°C离心 10min，留取上清。				
上清液（离心后留存）	200	200		
蒸馏水			200	
标准品				200
CB0010S-D	1000	1000	1000	1000
CB0010S-E	200	200	200	200
混匀后置于 30°C水浴保温 20min，于 680nm 测定光吸收。				

注：1. 测定管与空白管不同，先加 CB0010S-C，后加 CB0010S-B。

2. 空白管和标准管只需要测定 1 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÷(Cpr×V1)÷T=0.625×(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 = 0.625×(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 = 0.625×(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 = 0.625×(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：0.25μmol/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 TargetMol 蛋白质含量测定试剂盒 (C0050) 测定；W：样品质量 (g)；V1：加入反应体系中粗酶液体积，100=0.1 mL；V2：粗酶液总体积，1mL；T：催化反应时间，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。

