

碱性蛋白酶（AKP）活性检测试剂盒（可见分光光度法）

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：BA1168

产品规格：50管/24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。

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。

产品内容：

提取液：液体35mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：粉剂×1瓶，4℃保存。临用前加10mL蒸馏水溶解。

试剂二：粉剂×1瓶，4℃避光保存。临用前加入10mL提取液，沸水浴中磁力搅拌溶解。

试剂三：液体50mL×1瓶，4℃保存。

试剂四：液体10mL×1瓶，4℃保存。

标准品：液体1mL×1支，20μmol/mL标准酪氨酸溶液，4℃保存。

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、1mL玻璃比色皿、水浴锅、磁力搅拌器、可调式移液枪、1.5 mL EP管、冰和蒸馏水。

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	100	100		
试剂一	200			
试剂二		200		
混匀后40℃水浴保温10min				
试剂一		200		



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂二	200			
混匀后10000rpm 4℃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40℃水浴保温20min				

取1mL于1mL玻璃比色皿中，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。并计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 、 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

三、碱性蛋白酶活性计算：

(1) 按蛋白浓度计算

酶活单位定义：40℃每毫克蛋白每分钟催化水解产生1 μmol 酪氨酸为一个酶活单位。

AKP活性 (U/mg prot) = $C_{\text{标准品}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_1 \div (C_{\text{pr}} \times V_2) \div T = 0.125 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$

(2) 按样本质量计算

酶活单位定义：40℃每克样本每分钟催化水解产生1 μmol 酪氨酸为一个酶活单位。

AKP活性 (U/g 质量) = $C_{\text{标准品}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_1 \div (W \times V_2 \div V_3) \div T = 0.125 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$

C标准品：0.25 $\mu\text{mol/mL}$ 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)，0.5mL； V2：加入反应体系中粗酶液体积 (mL)，0.1mL； V3：粗酶液总体积 (mL)，1mL； T：催化反应时间 (min)，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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com