

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、标准溶液的配制：临用前将20μmol/mL标准液用蒸馏水稀释80倍至0.25μmol/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）

| 试剂名称（μL） | 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 | | | | |



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

| | | | | |
|----------------------------|------|------|------|------|
| 试剂一 | | 200 | | |
| 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 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管}$ 、 $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。

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 μ mol酪氨酸为一个酶活单位。

AKP活性 (U/mg prot) = $C_{标准品} \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times V1 \div (C_{pr} \times V2) \div T = 0.125 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div C_{pr}$

(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 μ mol酪氨酸为一个酶活单位。

AKP活性 (U/g 质量) = $C_{标准品} \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times V1 \div (W \times V2 \div V3) \div T = 0.125 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W$

C标准品: 0.25 μ mol/mL标准酪氨酸溶液; C_{pr}: 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