Beijing Solarbio Science & Technology Co., Ltd
Tel: 400-968-6088
Fax: 010-56371281
Http://www.solarbio.com

酸性蛋白酶（ACP）活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC2285

规格：100T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 55 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 4mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 20 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 4 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	液体 5mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

溶液的配制：

1、 试剂二：临用前加入 4 mL 试剂五，沸水浴中搅拌溶解；

2、 标准品：20μmol/mL 标准酪氨酸。

产品说明：

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。

需自备的仪器和用品：

研钵/匀浆器、台式离心机、水浴锅、磁力搅拌器、可调式移液枪、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、1.5 mL EP 管、冰、蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

称约0.1g组织，加入1mL提取液，冰上充分研磨，10000rpm 4℃离心10min，取上清，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/酶标仪预热30min以上，调节波长至680nm，蒸馏水调零。

2、 试剂一、试剂二和试剂三置于30℃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（1.5mLEP管中分别加入下列试剂）

试剂名称（μL）	对照管	测定管	空白管	标准管
粗酶液	20	20	-	-
提取液	20	20		
试剂一	40	-		
试剂二	-	20		
混匀后30℃水浴保温10min				
试剂一	-	40		
试剂二	20	-		
混匀后10000rpm 4℃离心10min，取上清				
上清	40	40	-	-
蒸馏水	-	-	40	-
标准品	-	-	-	40
试剂三	200	200	200	200
试剂四	40	40	40	40
混匀后30℃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、A测定、A空白、A标准。

三、ACP活性计算

1、按样本蛋白浓度计算

酶活单位定义：30℃每毫克蛋白每分钟催化水解产生 1μmol 酪氨酸为一个酶活单位。

ACP 酶活（U/mg prot）=C 标准品×（A 测定-A 对照）÷（A 标准-A 空白）×V1÷（Cpr×V2）÷T

=0.125×（A 测定-A 对照）÷（A 标准-A 空白）÷Cpr

2、按样本质量计算

酶活单位定义：30℃每克样本每分钟催化水解产生 1μmol 酪氨酸为一个酶活单位。

ACP 酶活（U/g 质量）=C 标准品×（A 测定-A 对照）÷（A 标准-A 空白）×V1÷（W×V2÷V3）÷T

=0.125×（A 测定-A 对照）÷（A 标准-A 空白）÷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，0.1mL；V2：加入反应体系中粗酶液体积，2×10^{-2} mL；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，（A 测定-A 对照）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℃离心 10min，取上清，置冰上，之后按照测定步骤操作，使用 96 孔板测得计算 A 测定=0.303，A 对照=0.271，A 标准=0.253，A 空白=0.044，按样本质量计算酶活得：

ACP 活性（U/g 质量）=0.125×（A 测定-A 对照）÷（A 标准-A 空白）÷W=0.191 U/g 质量。

相关发表文献：

[1] Xin-Bin, Gu, Xin, et al. Hematopoietic Substrate-1-Associated Protein X-1 Regulates the Proliferation and Apoptosis of Endothelial Progenitor Cells Through Akt Pathway Modulation[J]. Stem Cells, 2017. (IF 5.614)

[2] Shijun Wang, Yunfei Cao, Zuqing Yang, et al. MicroRNA-93-5p increases multidrug resistance in human colorectal carcinoma cells by downregulating cyclin dependent kinase inhibitor 1A gene expression. Oncology Letters. December 2016. (IF 1.874)

相关系列产品：

BC2290/BC2295 中性蛋白酶（NP）活性检测试剂盒

BC2300/BC2305 碱性蛋白酶（AKP）活性检测试剂盒