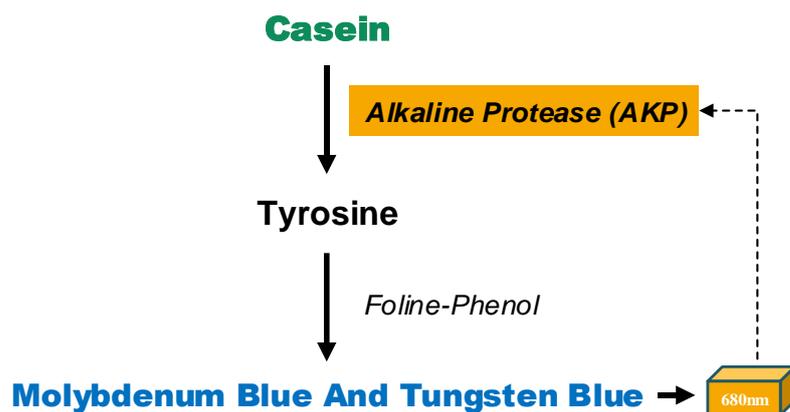




碱性蛋白酶（AKP）活性检测试剂盒
Alkaline Protease (AKP) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



碱性蛋白酶 (AKP) 活性检测试剂盒

Alkaline Protease (AKP) Activity Assay Kit

一、产品描述

碱性蛋白酶 (AKP) 属于内肽酶中的丝氨酸蛋白酶类, 在碱性环境下作用于肽键可将蛋白质水解为氨基酸、多肽以及游离氨基酸, 还能够水解酯键、酰胺键, 具有转酯及转肽的功能, 在酶洗涤剂工业、食品加工、酿造、医药和皮革加工等领域具有广泛应用。

碱性蛋白酶能够在碱性条件下, 催化酪蛋白水解产生酪氨酸, 酪氨酸在碱性条件下能够还原磷钼酸化合物生成钨蓝, 产物在 680 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征碱性蛋白酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	粉剂×1 瓶	4°C 避光保存	使用前加 5 mL 蒸馏水充分溶解
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C 避光保存	使用前加 5 mL 提取液充分混匀 (沸水浴中溶解, 密封以防止水分散失)
试剂三	液体 25 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂四	液体 5 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C 避光保存	25 μmol/mL 酪氨酸标准液
标准应用液的制备 (现配现用): 将 25 μmol/mL 酪氨酸标准液使用蒸馏水稀释 100 倍至 0.25 μmol/mL 即为标准稀释液。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

① 细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 按照细菌或细胞数量 (10^4 个): 提取液体积 (mL) 为 (500-1000): 1 的比例 (建议 500 万个细菌或细胞加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 300 W, 超声 3 s, 间隔 7 s, 总时间 3 min), 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

②组织：按照组织质量 (g)：提取液体积 (mL) 为 1：(5-10) 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清、培养液等液体样本：直接测定或使用提取液适当稀释后再进行测定。

2.测定步骤

①分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 680 nm，蒸馏水调零。

②使用前将试剂一、试剂二和试剂三 40°C 预热 30 min。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
粗酶液	20	20	-	-
试剂一	-	40	-	-
试剂二	40	-	-	-
充分混匀，40°C 反应 10 min				
试剂一	40	-	-	-
试剂二	-	40	-	-
充分混匀，4°C 8000 g 离心 10 min，取上清				
上清液	40	40	-	-
标准应用液	-	-	40	-
蒸馏水	-	-	-	40
试剂三	200	200	200	200
试剂四	40	40	40	40
充分混匀，40°C 反应 20 min				

吸光值测定：取 200 μL 反应液于微量玻璃比色皿/96 孔板中，测定 680 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：标准管和空白管只需测定 1-2 次，每个测定管均需设立一个对照管。

3.碱性蛋白酶 (AKP) 活性计算

①按组织质量计算

单位定义：40°C 每 g 组织每分钟催化生成 1 μmol 酪氨酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{AKP (U/g)} = \frac{C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{酶促}} \times V_{\text{提}}}{\Delta A_{\text{标准}} \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{0.125 \times \Delta A_{\text{测定}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

②按组织蛋白浓度计算

单位定义：40°C每 mg 组织蛋白每分钟催化生成 1 μmol 酪氨酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{AKP (U/mg prot)} = \frac{\text{C 标准} \times \Delta\text{A 测定} \times \text{V 酶促}}{\Delta\text{A 标准} \times \text{Cpr} \times \text{V 样} \times \text{T}} = \frac{0.125 \times \Delta\text{A 测定}}{\text{Cpr} \times \Delta\text{A 标准}}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：40°C每 10⁴ 个细菌或细胞每分钟催化生成 1 μmol 酪氨酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{AKP (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\text{C 标准} \times \Delta\text{A 测定} \times \text{V 酶促} \times \text{V 提}}{\Delta\text{A 标准} \times \text{细菌或细胞数量} \times \text{V 样} \times \text{T}} = \frac{0.125 \times \Delta\text{A 测定}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta\text{A 标准}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：40°C每 mL 液体样本每分钟催化生成 1 μmol 酪氨酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{AKP (U/mL)} = \frac{\text{C 标准} \times \Delta\text{A 测定} \times \text{V 酶促}}{\Delta\text{A 标准} \times \text{V 样} \times \text{T}} = \frac{0.125 \times \Delta\text{A 测定}}{\Delta\text{A 标准}}$$

注释： C 标准：酪氨酸标准应用液浓度，0.25 μmol/mL； V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL； V 提：粗酶液总体积，1 mL； V 酶促：酶促反应总体积，0.1 mL； Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL； W：样品质量，g； T：催化反应时间，10 min。

四、注意事项

- ①若ΔA 测定差值较小，可适当延长第一步反应时间（15-25 min），计算时相应修改；
- ②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

