

植物酸性蛋白酶(ACPr)检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHB1-C24	酸性蛋白酶(ACPr)试剂盒	24T	常量法
PMHB1-C48		48T	

一、测定意义：

ACPr 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。

二、测定原理：

酸性条件下，ACPr 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 ACPr 活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体30mL×1瓶	液体60mL×1瓶	2-8℃保存
试剂一	液体20mL×1瓶	液体40mL×1瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1瓶	粉剂×2瓶	2-8℃保存
试剂二应用液的配制：每瓶粉剂加入12mL试剂一，沸水浴搅拌充分溶解后待用。			
试剂三	液体12mL×1瓶	液体24mL×1瓶	2-8℃保存
试剂四	液体45mL×1瓶	液体90mL×1瓶	2-8℃保存
试剂五	液体10mL×1瓶	液体20mL×1瓶	2-8℃保存
标准品 (10μmol/mL)	1.5mL×1支	1.5mL×1支	2-8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入

1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 680nm，蒸馏水调零。
- 2、标准品溶液稀释：取适量标准品用蒸馏水稀释至 0、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5μmol/mL，制作标准曲线。
- 3、操作表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
样本（μL）	100	100	-	-
试剂一（μL）	100	100		
试剂二（μL）	200	-		
混匀，37℃孵育10min				
试剂三（μL）	200	200		
试剂二（μL）	-	200		
混匀，10000转/min常温离心10min，取上清液备用。				
上清液（μL）	150	150	-	-
标准液（μL）	-	-	150	-
蒸馏水（μL）	-	-	-	150
试剂四（μL）	750	750	750	750
试剂五（μL）	150	150	150	150
混匀后 37℃保温20min，10000rpm室温离心10min，取上清液于波长680nm，1cm光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值。分别记为 A _{测定} 、A _{对照} 、A _{标准} 、A _{空白} 。计算 $\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$ 。每个测定管需设一个对照，标准和空白只需要测一次。				

五、酸性蛋白酶（ACPr）活性计算：

1、标准曲线绘制：以吸光度值为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线 $y=kx+b$, x 为吸光度值, y 为标准品浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)。

根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式计算出样本浓度 (y , $\mu\text{mol/mL}$)；

2、按样本质量计算：

单位定义：每克组织在反应体系每分钟催化水解 $1\mu\text{mol}$ 酪素为 1 个酶活单位。

计算公式： $\text{ACPr (U/g)} = y \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.6 \times y \div W$

3、按蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克组织蛋白在反应体系中每分钟催化水解 $1\mu\text{mol}$ 酪素为 1 个酶活单位。

计算公式： $\text{ACPr (U/mg prot)} = y \times V_{\text{反应}} \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 0.6 \times y \div Cpr$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 0.6mL ； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积， 0.1mL ；

$V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积， 1mL ； T ：反应时间， 10min ； Cpr ：样本蛋白质浓度， mg/mL ； W ：样本质量 g 。

六、注意事项：

1、比色时，溶液呈现蓝色，在 1h 内保持稳定；

2、不同样本的酸性蛋白酶差异较大，先做预实验确认样本稀释倍数。

如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 $A_{\text{测}}$ 大于 0.3 ，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

3、不同仪器测定出来的吸光度值存在差异，实验时需同时测定标准曲线。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日