

胰蛋白酶活性检测试剂盒

Trypsase Assay Kit

可见分光光度法

货号：AK224

规格：50T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK224-A	50 ml ×1 瓶	4℃保存；
AK224-B	粉剂×1 瓶	4℃避光保存。临用前加 5mL 蒸馏水充分溶解；
AK224-C	50 ml ×1 瓶	4℃保存；

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：胰蛋白酶 (Trypsase, Parenzyme) 选择性水解变性蛋白质中由赖氨酸或精氨酸的羧基所构成的肽链，是一种重要的消化酶。此外，胰蛋白酶还广泛应用于脓胸、血胸、外科炎症、溃疡、创伤性损伤等所产生的局部水肿、血肿及脓肿等的辅助治疗。

原理：胰蛋白酶催化水解 BAEE 的酯键，生成 BA，BA 在 253nm 处有吸收峰，通过测定 253nm 吸光度增加速率，即可计算出胰蛋白酶的活性。

自备用品：

紫外分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

粗酶液提取：

组织样品：按照组织质量 (g)：AK224-A 体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL AK224-A）冰浴匀浆，8000g，4℃离心 10min，取上清，即粗酶液。

测定步骤：

1. 分光光度计预热 30 min，调节波长到 253 nm，蒸馏水调零。
2. 将 AK224-B 置于 37℃水浴预热 30min。
3. 在 1mL 石英比色皿中依次加入下列试剂

试剂名称	对照管 (ul)	测定管 (ul)
蒸馏水	10	
AK224-B	100	
AK224-C	900	
迅速混匀于 253nm 测定 0s 和 60s 的吸光度 A1 和 A2, ΔA 空白= A2-A1。		
粗酶液		10
AK224-B		100
AK224-C		900
迅速混匀于 253nm 测定 0s 和 60s 的吸光度 A3 和 A4, ΔA 测定= A4-A3。		

注意：空白管只需做一次。

胰蛋白酶活性计算公式：

1. 按蛋白浓度计算

活性单位定义：37℃每毫克蛋白质每分钟催化 253 nm 处吸光值增加 1 为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{胰蛋白酶 (U/mg prot)} &= (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \times V \text{ 反总} \div (\text{Cpr} \times V1) \div T \\ &= 101 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

注： Cpr: 粗酶液蛋白质浓度(mg/mL), 需要另外测定; V1: 加入反应体系中粗酶液体积(mL), 10 μ L=0.01 mL; V 反总: 反应总体积, 1.01mL; T: 反应时间(min), 1min。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司: BCA Protein Assay Kit (C05-02001)

2. 按样本质量计算

活性单位定义: 37 $^{\circ}$ C 每克组织每分钟催化 253 nm 处吸光值增加 1 为 1 个酶活单位。

$$\text{胰蛋白酶 (U/g)} = (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \times V \text{ 反总} \div (W \times V1 \div V2) \div T = 101 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div W$$

注： W: 组织质量(g); V1: 加入反应体系中粗酶液体积(mL), 10 μ L=0.01 mL; V2: 粗酶液 总体积(mL), 1 mL; V 反总: 反应总体积, 1.01mL; T: 反应时间(min), 1min。

注意事项:

1. 预实验保证吸光值变化在 0.01~0.1 之间。
2. 配制好的 AK224-B 4 $^{\circ}$ C 保存, 7 天内使用完毕。