

胰蛋白酶活性检测试剂盒

Trypsase Assay Kit

紫外分光光度法

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 1mL 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, 置冰上待测。

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. 工作液的配制: 将 AK224-B、AK224-C 按 2: 97 配制工作液, 按需配制, 实验前置于 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	空白管 (ul)	测定管 (ul)
蒸馏水	10	
工作液	990	
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
工作液		990
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 1-2 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: 在 1ml 体系下, 37℃每毫克蛋白质每分钟催化 253 nm 处吸光值增加 0.001 为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned}\text{胰蛋白酶 (U/mg prot)} &= (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div 0.001 \div (\text{Cpr} \times V1) \div T \\ &= 10^5 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div \text{Cpr}\end{aligned}$$

※ 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：在 1ml 体系下，37℃ 每克组织每分钟催化 253 nm 处吸光值增加 0.001 为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned}\text{胰蛋白酶 (U/g)} &= (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div 0.001 \div (W \times V1 \div V2) \div T \\ &= 10^5 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div W\end{aligned}$$

注：Cpr：粗酶液蛋白质浓度(mg/mL)，需要另外测定；W：组织质量(g)；V1：加入反应体系中粗酶液体积(mL)，10 μL=0.01 mL；V2：粗酶液总体积(mL)，1 mL；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. 若所测结果 ΔA 测定为负值，可适当将 AK224-B 稀释（2 倍或 4 倍）再进行实验。