

胰蛋白酶活性检测试剂盒 (分光光度计法)
(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0404	胰蛋白酶活性检测试剂盒	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 50mL ×1 瓶	4°C
试剂一	粉剂×1 支: 临用前加 1mL 蒸馏水充分溶解。	4°C, 避光
试剂二	液体 50mL ×1 瓶	4°C

一、产品说明

胰蛋白酶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。

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。

二、自备材料

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。

三、样本准备 (粗酶液提取):

称取约 0.1g 样品, 加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆, 10000 rpm 4°C离心 10min, 取上清液, 即粗酶液, 置冰上待测。或者直接称取 1mg 酶粉, 加 1mL 提取液, 充分混匀后置冰上待测 (为保证实验的准确性建议梯度稀释)。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 253nm, 蒸馏水调零。
- 2、工作液的配制: 将试剂一与试剂二按 2:97 配置工作液, 按需配制, 并置于 37°C 水浴预热 30min 以上。
- 3、空白管: 取 1mL 石英比色皿, 加入 990 μ L 工作液, 再加入 10 μ L 蒸馏水, 混匀, 迅速于 253nm 测定 0s 和 60s 的吸光度, 分别记为 A1、A2, ΔA 空白=A2-A1。
- 4、测定管: 取 1mL 石英比色皿, 加入 990 μ L 工作液, 再加入 10 μ L 粗酶液, 混匀, 迅速于 253nm 测定 0s 和 60s 的吸光度, 分别记为 A3、A4, ΔA 测定=A4-A3。

五、胰蛋白酶活性的计算

1、按照蛋白浓度计算:

活性单位 (U) 定义: 在 1mL 体系下, 37°C 每毫克蛋白质每分钟催化 253nm 处吸光值增加 0.001 为一个单位。

$$\text{胰蛋白酶 (U/mg prot)} = (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div 0.001 \div (\text{Cpr} \times V1) \div T \\ = 100000 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div \text{Cpr}。$$

2、按照样本鲜重计算:

活性单位 (U) 定义: 在 1mL 体系下, 37°C 每克组织每分钟催化 253nm 处吸光值增加 0.001 为一个单位。

$$\text{胰蛋白酶 (U/g 鲜重)} = (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div 0.001 \div (W \times V1 \div V2) \div T \\ = 100000 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div W。$$

Cpr: 粗酶液蛋白质浓度 (需要另外测定), mg/mL; W: 样本鲜重, g; V1: 加入反应体系中粗酶液体积, 10 μ L=0.01 mL; V2: 粗酶液总体积, 1 mL; T: 反应时间, 1min。

六、注意事项

1、实验前用 1~2 个样做预实验, 保证吸光值变化在 0.01~0.15 之间。