

## 胰蛋白酶活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1458

产品规格：100管/96样

### 产品简介：

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。

**注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

### 试验中所需的仪器和试剂：

紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板（UV板）、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×2支	2-8℃
试剂二	液体20mL×1瓶	-20℃

溶液的配制：

1. 试剂一：临用前加入0.5mL蒸馏水，充分溶解；
2. 工作液的配制：将试剂一、试剂二按2：97配制工作液，按需配制，实验前置于37℃水浴预热20min以上。

### 操作步骤（仅供参考）：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

称取约0.1g样本，加入1mL提取液进行冰浴匀浆，10000rpm 4℃离心10分钟，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）。

#### 二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至253nm，蒸馏水调零。
2. 样本测定：
  - (1) 空白管：取微量石英比色皿/96孔板，加入198μL工作液，再加入2μL蒸馏水，迅速于253nm测定0s和60s的吸光度，分别记为A1、A2， $\Delta A_{\text{空白}} = A2 - A1$ 。
  - (2) 测定管：取微量石英比色皿/96孔板，加入198μL工作液，再加入2μL粗酶液，迅速于253nm测定0s和60s的吸光度，分别记为A3、A4， $\Delta A_{\text{测定}} = A4 - A3$ 。

#### 三、胰蛋白酶活计算：

##### A、使用微量石英比色皿测定的计算公式

1. 按样本蛋白浓度计算

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

胰蛋白酶 (U/mg prot) =  $(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div 0.001 \div (\text{Cpr} \times V1) \div T \times (V3 \div V4) = 10^5 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div \text{Cpr}$



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

## 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 253nm 处吸光值增加 0.001 为一个单位。

胰蛋白酶 (U/g 质量) =  $(\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div 0.001 \div (W \times V1 \div V2) \div T \times (V3 \div V4) = 10^5 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div W$

Cpr: 粗酶液蛋白质浓度, mg/mL, 需要另外测定; W: 样本质量, g; V1: 加入反应体系中粗酶液体积, 2 $\mu$ L=0.002mL; V2: 粗酶液总体积, 1mL; T: 反应时间, 1min; V3: 反应总体积, 198 $\mu$ L+2 $\mu$ L=200 $\mu$ L=0.2mL; V4: 1mL 体系。

## B、使用 96 孔测定的计算公式

### 1. 按样本蛋白浓度计算

活性单位定义：在 1mL 体系下，37℃ 每毫克蛋白质每分钟催化 253nm 处吸光值增加 0.0005 为一个单位。

胰蛋白酶 (U/mg prot) =  $(\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div 0.0005 \div (Cpr \times V1) \div T \times (V3 \div V4)$   
 $= 2 \times 10^5 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div Cpr$

### 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 253nm 处吸光值增加 0.0005 为一个单位。

胰蛋白酶 (U/g 质量) =  $(\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div 0.0005 \div (W \times V1 \div V2) \div T \times (V3 \div V4)$   
 $= 2 \times 10^5 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div W$

Cpr: 粗酶液蛋白质浓度, mg/mL, 需要另外测定; W: 样本质量, g; V1: 加入反应体系中粗酶液体积, 2 $\mu$ L=0.002 mL; V2: 粗酶液总体积, 1mL; T: 反应时间, 1min; V3: 反应总体积, 198 $\mu$ L+2 $\mu$ L=200 $\mu$ L=0.2mL; V4: 1mL 体系。

## 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(若使用 96 孔 UV 板, 变化范围在 0.01-0.08 之间)。
2. 若所测结果  $\Delta A$  测定为负值, 可适当将试剂一稀释 (2 倍或 4 倍) 再进行实验。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com