

## 胰蛋白酶活性检测试剂盒（紫外分光光度法）

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1457

产品规格：50管/48样

产品内容：

提取液：液体50mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：粉剂×1支，4℃避光保存。临用前加1mL蒸馏水充分溶解。

试剂二：液体50mL×1瓶，4℃保存。

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。

需自备的仪器和用品：

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。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

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

二、测定：

1. 分光光度计预热30min以上，调节波长到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℃水浴预热30min以上。

3. 空白管：取1mL石英比色皿，加入990μL工作液，再加入10μL蒸馏水，混匀，迅速于253nm测定0s和60s的吸光度，分别记为A1、A2， $\Delta A_{\text{空白}}=A2-A1$ 。

4. 测定管：取1mL石英比色皿，加入990μL工作液，再加入10μL粗酶液，混匀，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、胰蛋白酶活性计算：

1. 按蛋白浓度计算：

活性单位（U）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。

$$\begin{aligned} \text{胰蛋白酶 (U/mg prot)} &= (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div 0.001 \div (Cpr \times V1) \div T \\ &= 100000 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div Cpr \end{aligned}$$

2. 按样本鲜重计算：

活性单位（U）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。

$$\begin{aligned} \text{胰蛋白酶 (U/g 鲜重)} &= (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div 0.001 \div (W \times V1 \div V2) \div T \\ &= 100000 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W \end{aligned}$$

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，10μL=0.01mL；V2: 粗酶液总体积，1mL；T: 反应时间，1min。

注意事项：

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。



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