

胰蛋白酶活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYHC7-C24	胰蛋白酶活性检测试剂盒	24T	常量法
AYHC7-C48		48T	

一、测定意义：

胰蛋白酶（Trypsin，EC 3.4.4.4）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。

二、测定原理：

胰蛋白酶特异性催化 BAPA（N-苯甲酰-L-精氨酸-对-硝基苯胺盐酸盐）水解，断裂精氨酸与对硝基苯胺间的肽键，释放黄色的对硝基苯胺。测定 405nm 波长下对硝基苯胺的吸光度，其吸光度值与胰蛋白酶水解 BAPA 生成的对硝基苯胺量呈线性关系，由此实现胰蛋白酶活性的定量分析。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 15mL×1 瓶	液体 30mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 15mL×1 瓶	液体 30mL×1 瓶	-20℃保存
工作液的配制：试剂一：试剂二=1:1，配完后混合均匀后再加入样本中。			

注：工作液使用前先 37℃预热 10min。

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量（g）:提取液（mL）为 1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞：按照细胞数量 10⁴ 个：提取液体积（mL）500~1000:1 的

比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

3、血清（浆）等液体：直接测定。

测定步骤

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 405nm，蒸馏水调零；

2、测定前将试剂恢复至常温；

3、操作表（试剂依次加入离心管中）：

试剂名称	测定管	对照管
样品（μL）	50	-
蒸馏水（μL）	-	50
工作液（μL）	950	950
记录 405nm 处 20s 时吸光值 A1 和 5min20s 时的吸光值 A2，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}}$ ； $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。（空白管只做 1-2 管）		

五、胰蛋白酶活性计算：

1、组织样本胰蛋白酶计算

(1) 按样本质量计算：

单位定义：每克组织每分钟消耗 1μmol 对硝基苯胺为一个酶活力单位。

计算公式：胰蛋白酶（nmol/min/g）= $\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 0.41 \times \Delta A \div W$

(2) 按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克蛋白每分钟消耗 1μmol 对硝基苯胺为一个酶活力单位。

计算公式：胰蛋白酶（nmol/min/mg prot）= $\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 0.41 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

(3) 按细菌或细胞数量计算:

单位定义: 每 1 百万个细菌或细胞每分钟消耗 1 μ mol 对硝基苯胺为一个酶活力单位。

计算公式: 胰蛋白酶 (U/10⁴ cell) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 5) \div T = 0.082 \times \Delta A$

$V_{\text{反应}}$: 反应体系总体积, 1 $\times 10^{-3}$ L; ϵ : 对硝基苯胺摩尔消光系数, 9.87 $\times 10^3$ L/mol/cm; d : 比色皿光径, 1cm; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.05mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; T : 反应时间, 5min; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL; 10⁶: 单位换算系数, 1mol=10⁶ μ mol; W : 样本质量, g。

六、 注意事项:

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。

【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日