

## 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-M48	胰蛋白酶活性检测试剂盒	48T	微量法
AYHC7-M96		96T	

### 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(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 6mL×1 瓶	液体 12mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 6mL×1 瓶	液体 12mL×1 瓶	-20℃保存

工作液配置：试剂一：试剂二=1:1，配完后混合均匀后再加入样本中。

### 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  $10^4$  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、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 405nm。
- 2、测定前将试剂恢复至常温，工作液使用前先 37℃预热 10min；
- 3、操作表（试剂依次加入 96 孔板中）：

试剂名称	测定管	对照管
样品 ( $\mu$ L)	10	-
蒸馏水 ( $\mu$ L)	-	10
工作液 ( $\mu$ L)	190	190

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 1 $\mu$ mol 对硝基苯胺为一个酶活单位。

**计算公式：**胰蛋白酶 (U/g) =  $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 0.68 \times \Delta A \div W$

###### (2) 按样本蛋白浓度计算：

**单位定义：**每毫克蛋白每分钟消耗 1 $\mu$ mol 对硝基苯胺为一个酶活力单位。

**计算公式：**胰蛋白酶 (U/mg prot) =  $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T = 0.68 \times \Delta A \div Cpr$

###### (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 $\mu\text{mol}$  对硝基苯胺为

一个酶活力单位。

**计算公式:** 胰蛋白酶 (U/ $10^4$  cell) =  $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样本}} \div V_{\text{总}} \times 5) \div T = 0.14 \times \Delta A$

$V_{\text{反应}}$ : 反应体系总体积,  $2 \times 10^{-4}$  L;  $\varepsilon$ : 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, 0.6cm;  $V_{\text{样本}}$ : 加入样本体积,

0.01mL;  $V_{\text{总}}$ : 加入提取液体积, 1mL;  $T$ : 反应时间, 5min;

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;  $10^6$ : 单位换算系数, 1mol= $10^6$  $\mu\text{mol}$ ;

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