Trypsin Assay Kit

胰蛋白酶试剂盒说明书

货号：BN72651| 方法：可见分光法 | 规格：48 样

一、产品简介：

胰蛋白酶(EC 3.4.4.4) 是蛋白酶的一种，可以催化水解酰胺键。是一种重要的消化酶。

胰蛋白酶催化水解 N-苯甲酰-DL-精氨酸-对硝基苯胺盐酸盐(BAPNA)生成对硝基苯胺，后者在 405nm 有最大吸收峰，通过测定吸光值升高速率即可得出胰蛋白酶的活性大小。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存条件	备注
试剂一	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 1.2mL×1 支	-20℃保存	若**凝固**则可于 37℃水浴至融化。
标准品	粉体 mg×1 支	4℃保存	若重做标曲，则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、台式离心机、可调式移液器、天平、研钵、冰和蒸馏水。

四、胰蛋白酶活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：

取约 0.1g 组织，加入 1mL 生理盐水，进行冰浴匀浆。4℃×12000rpm 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取

② 细菌/细胞样本：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 生理盐水，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（10^4）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

③ 液体样本：若是澄清液体，直接检测，若液体样本浑浊，需 4℃×12000rpm，离心 10min，取上清液检测。

2、上机检测：

① 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 405nm，蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至至 37℃或 37℃水浴 15-30min。

③ **反应 mix** 制备：试剂二若**凝固**则可于 37℃水浴至融化，再按照试剂一：试剂二=0.97mL：0.03mL 混匀成**反应 mix**，现配现用，用多少量配制多少反应 mix。

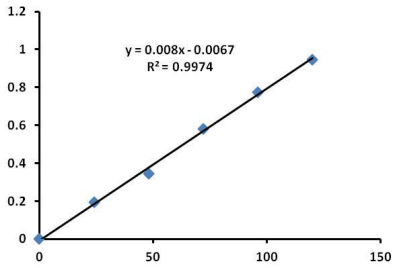
④ 在 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
样本	120
反应 mix	680
混匀， 立即于 405nm 处测定吸光值 A1，37℃条件下反应 10min 后读取 A2，ΔA=A2-A1。	

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线：y = 0.008x - 0.0067：x 为标准品(nmoL)，y 为ΔA。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每分钟催化产生 1nmoL 对硝基苯胺为一个酶活单位（U）。

胰蛋白酶(nmoL/min/g 鲜重)=[(ΔA+0.0067)÷0.008]÷(W×V1÷V)÷T =104.2×(ΔA+0.0067)÷W

3、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1nmoL 对硝基苯胺为一个酶活单位（U）。

胰蛋白酶(nmoL/min/mg prot)=[(ΔA+0.0067)÷0.008]÷(V1×Cpr)÷T=104.2×(ΔA+0.0067)÷Cpr

4、按细胞数量计算：

单位定义：每 10^4 个细胞每分钟催化产生 1nmoL 对硝基苯胺为一个酶活单位（U）。

胰蛋白酶(nmoL/min/10^4 cell)= [(ΔA+0.0067)÷0.008]÷(500×V1÷V)÷T=0.21×(ΔA+0.0067)

5、按照液体体积计算：

单位定义：每毫升液体每分钟催化产生 1nmoL 对硝基苯胺定义为一个酶活单位（U）。

胰蛋白酶(nmoL/min/mL)= [(ΔA+0.0067)÷0.008]÷V1÷T=104.2×(ΔA+0.0067)

V---加入提取液体积，1 mL；　　V1---加入样本体积，0.12 mL；
W---样本质量，g；　　500--细菌或细胞总数，500 万；
T---反应时间，10min；
Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒；