



胰蛋白酶 (TRY) 活性检测试剂盒

Trypsase (TRY) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



胰蛋白酶 (TRY) 活性检测试剂盒

Trypsase (TRY) Activity Assay Kit

一、产品描述

胰蛋白酶 (Trypsase) 是一种丝氨酸蛋白酶，能够选择性水解变性蛋白质中由赖氨酸或精氨酸羧基所构成的肽链，作为一种重要消化酶，在食品、制药、皮革、纺织、化妆品、畜牧、医疗和生物研究等领域具有广泛应用。

胰蛋白酶能够催化 N-苯甲酰-L-精氨酸乙酯 (N-Benzoyl-L-Arginine-Ethylester, BAEE) 中酯键水解，生成 N-苯甲酰-L-精氨酸 (N-Benzoyl-L-Arginine, BA)，产物在 253 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征胰蛋白酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	粉剂×1 支	4°C 避光保存	使用前加入 400 μL 蒸馏水充分溶解 (配制后 4°C 可保存 1 个月)
试剂二	液体 25 mL×1 瓶	4°C 保存	-
检测工作液的制备 (现配现用): 根据使用量按试剂一: 试剂二=1:200 的体积比配制, 充分混匀后即为检测工作液。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿 (光径 10 mm) /96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: (5-10) 的比例 (建议称取 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 10000 g 离心 10 min, 取上清即为粗酶液, 置于冰上待测。

②酶制剂: 称取 5-10 mg 酶制剂样品, 加入 1 mL 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后再进行测定)。

2.测定步骤

- ①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 253 nm，蒸馏水调零。
- ②试验前将检测工作液 25℃预热 10 min 以上。
- ③在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	10	-
蒸馏水	-	10
检测工作液	200	200

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 253 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②25℃恒温准确反应 60 s，测定 70 s（总时间）时 253 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。注：空白组只需测定 1-2 次。

3.胰蛋白酶（TRY）活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：25℃条件下，每 mg 组织蛋白在 1 mL 反应体系中每分钟催化 253 nm 处吸光值增加 0.0005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Trypsase (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{0.0005 \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{4.2 \times 10^4 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：25℃条件下，每 g 组织在 1 mL 反应体系中每分钟催化 253 nm 处吸光值增加 0.0005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Trypsase (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}}}{0.0005 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{4.2 \times 10^4 \times \Delta A}{W}$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积 0.21 mL；T：反应时间，1 min；W：样本质量，g；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL。

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：25℃条件下，每 mg 组织蛋白在 1 mL 反应体系中每分钟催化 253 nm 处吸光值增加 0.001 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Trypsase (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{0.001 \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{2.1 \times 10^4 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：25℃条件下，每 g 组织在 1 mL 反应体系中每分钟催化 253 nm 处吸光值增加 0.001 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Trypsase (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}}}{0.001 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{2.1 \times 10^4 \times \Delta A}{W}$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，0.21 mL；T：反应时间，1 min；W：样本质量，g；C_{pr}：粗酶液蛋白浓度，mg/mL。

四、注意事项

①若 A₂ 测定大于 1.5 或 ΔA 大于 0.15，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定；若 ΔA 小于 0.01，建议适当增加样本量或延长酶促反应时间后再进行测定，计算时相应修改；

②准确在 10 s 和 70 s 处完成吸光值测定，以保证实验结果的准确性和重复性；若使用 96 孔 UV 板应使用多道移液器且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

