

## 胰蛋白酶检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1134

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：动物组织、血清（浆）等液体样本

胰蛋白酶（EC 3.4.4.4），是蛋白酶的一种，从牛、羊、猪的胰脏提取的一种丝氨酸蛋白水解酶。在脊椎动物中，作为消化酶而起作用。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。本试剂盒提供了一种简单、快速的胰蛋白酶检测方法，其检测原理是：胰蛋白酶催化水解 TAME 的酯键，释放出的游离羧基与反应体系中的氢氧化钠发生中和反应，导致溶液的 pH 值降低，以苯酚红为指示剂，测定溶液在 555nm 处吸收值的变化，可以快速测得胰蛋白酶活性数据。胰蛋白酶活性在一定范围内与 555nm 处吸收值的降低呈良好的线性关系。

### 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	60mL	120mL	4℃ 保存
试剂一	2.5mL	5mL	4℃ 保存
试剂二	2.5mL	5mL	-20℃避光保存
试剂三	1mL	2mL	4℃ 保存

### 自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 555nm 处的吸光度）

恒温箱、制冰机、低温离心机

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水

匀浆器

### 试剂准备

提取液：即用型；4℃ 保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；分装-20℃避光保存。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

工作液的配制：临用前根据用量按照试剂一：试剂二：去离子水：试剂三=1mL：1mL：5.4mL：0.4mL 的比例充分混合。未用完的工作液分装后-20℃避光保存，避免反复冻融。

### 样本制备

动物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，10,000g，4℃ 离心 10min，取上清液，置冰上待测（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）。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）。

血清（浆）等液体样本：直接测定。

**注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。**

## 产品说明书

### 实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 555nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定：在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入 5 $\mu$ L 样本和 195  $\mu$ L 工作液；充分混匀后，测定 555nm 处 1min 时的吸光值记为  $A_1$ ，2min 时的吸光值记为  $A_2$ 。计算  $\Delta A = A_1 - A_2$ 。

**注意：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  $\Delta A$  小于 0.005 可将反应时间延长到 5min 或适当加大样本量。如果体系迅速变色，样本可用提取液进一步稀释（建议稀释 10 倍），计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。**

### 结果计算

#### A. 使用 96 孔板测定的计算公式

##### 1. 按照蛋白浓度计算

活性单位的定义：室温下每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化 555nm 处吸光值减少 0.5 为 1 个酶活单位。

$$\text{胰蛋白酶 (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div 0.5 \div T \times n = 80 \times \Delta A \div \text{Cpr} \times n$$

##### 2. 按照样本质量计算

活性单位的定义：室温下每 g 组织在反应体系每分钟催化 555nm 处吸光值减少 0.5 为 1 个酶活单位。

$$\text{胰蛋白酶 (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\text{W} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.5 \div T \times n = 80 \times \Delta A \div \text{W} \times n$$

##### 3. 按照液体体积计算

单位的定义：室温下每 mL 液体样本在反应体系每分钟催化 555nm 处吸光值减少 0.5 为 1 个酶活单位

$$\text{碱性蛋白酶活性 (U/mL)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div 0.5 \div T \times n = 80 \times \Delta A \times n$$

#### B. 使用微量玻璃比色皿进行测定的计算公式

##### 1. 按照蛋白浓度计算

活性单位的定义：室温下每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化 555nm 处吸光值减少 1 为 1 个酶活单位。

$$\text{胰蛋白酶 (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div 1 \div T \times n = 40 \times \Delta A \div \text{Cpr} \times n$$

##### 2. 按照样本质量计算

活性单位的定义：室温下每 g 组织在反应体系每分钟催化 555nm 处吸光值减少 1 为 1 个酶活单位。

$$\text{胰蛋白酶 (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\text{W} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 1 \div T \times n = 40 \times \Delta A \div \text{W} \times n$$

##### 3. 按照液体体积计算

单位的定义：室温下每 mL 液体样本在反应体系每分钟催化 555nm 处吸光值减少 1 为 1 个酶活单位

$$\text{碱性蛋白酶活性 (U/mL)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div 1 \div T \times n = 40 \times \Delta A \times n$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应总体积，0.2 mL；Cpr：粗酶液蛋白质浓度，mg/mL，需要自行测定； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中样本体积，mL，5  $\mu$ L=0.005 mL；T：反应时间，min，1 min；W：组织质量，g； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；n：稀释倍数。

### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

PMK1135 胃蛋白酶检测试剂盒（微量法）

PMK1136 糜蛋白酶检测试剂盒/胰凝乳蛋白酶检测试剂盒（微量法）

PMK1096 碱性磷酸酶（AKP/ALP）检测试剂盒（微量法）

PMK1094 乙酰胆碱酯酶（AChE）检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

