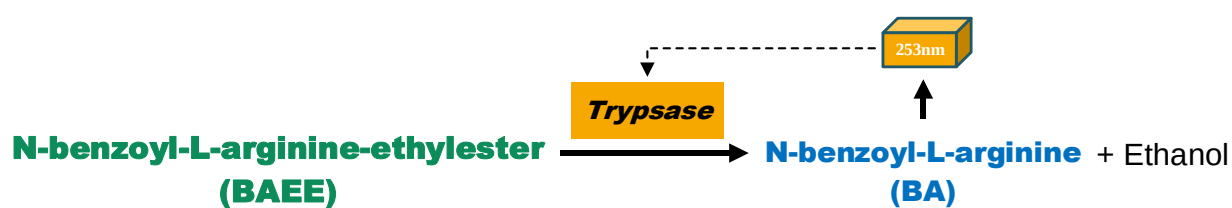




胰蛋白酶 (TRY) 活性检测试剂盒

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的羧基所构成的肽链，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，通过吸光值的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 0.5 mL 蒸馏水充分溶解
试剂二	液体 30 mL×1 瓶	4°C保存	-
TRY 工作液的制备 (现配现用): 根据使用量按试剂一: 试剂二= 1:49 的体积比配置, 充分混匀后即为 TRY 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、96 孔 UV 板/微量石英比色皿、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 1 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/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 TRY 检测工作液 37℃预热 30 min 以上。
- ③在微量石英比色皿/96 孔板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
检测工作液	200	200
粗酶液	2	-
蒸馏水	-	2

吸光值测定：①迅速混匀并开始计时，测定 253 nm 处初始吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②测定 60 s 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：空白管只需测定 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：37℃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。

$$\text{Trypsase (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{0.0005 \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{2.02 \times 10^5 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

- ②按组织样本质量计算

单位定义：37℃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。

$$\text{Trypsase (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}}}{0.0005 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{2.02 \times 10^5 \times \Delta A}{W}$$

注释：V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，2 μL=0.002 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积 202 μL=0.202 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。

3.2 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：37℃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。

$$\text{Trypsase (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{0.001 \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1.01 \times 10^5 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：37℃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。

$$\text{Trypsase (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}}}{0.001 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1.01 \times 10^5 \times \Delta A}{W}$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，2 μL=0.002 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积 202 μL=0.202 mL；T：反应时间，1 min；W：样本质量，g；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL。

四、注意事项

- ①建议调整样本量或稀释程度将吸光值变化控制在 0.01-0.15 之间，可提高检测精准度；
- ②若 ΔA 测定为负值，建议将试剂一适当稀释（2-5 倍）后再进行实验；
- ③准确在 0 s 和 60 s 处完成读数，以保证实验结果的准确性；若使用 96 孔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；
- ④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.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

