

CheKine™ 胰蛋白酶活性检测试剂盒（微量法）

货号: KTB2320

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动植物组织
	保质期: 4℃, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

胰蛋白酶(Trypsin, Try) (EC 3.4.21.4) 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。

本试剂盒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 555 nm 处吸收值的变化, 可以快速测得胰蛋白酶活性数据。胰蛋白酶在一定范围内与 555 nm 处吸收值的降低呈良好的线性关系。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	120 mL	4℃
Reagent I	2.5 mL	5 mL	4℃, 避光保存
Reagent II	2.5 mL	5 mL	4℃, 避光保存
Reagent III	1 mL	2 mL	4℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 555 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水	试剂配制用
其他	匀浆器或研钵（组织样本）、水浴锅、低温离心机、 可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询 本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴 实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃，避光保存
Reagent II	即用型；使用前平衡到室温	4℃，避光保存
Reagent III	即用型；使用前平衡到室温	4℃，避光保存

05-2 样本制备

注意：建议使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80℃下保存一个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

- 动植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，10000 g，4℃离心 10 min，取 上清液，即粗酶液，置冰上待测。

05-3 实验步骤

注意：Reagent II 有一定的刺激性，建议在使用过程中做好个人防护。

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 555 nm。
2. Working Reagent：临用前配制；根据用量按照 Reagent I (V) : Reagent II (V) : 去离子水 (V) : Reagent III (V) = 1 mL : 1 mL : 5.4 mL : 0.4 mL 的比例充分混合，现配现用。用多少配多少，在空瓶中配制，48 T 中带有 2 个空瓶，96 T 中带有 4 个空瓶。
3. 检测体系配制：在 96 孔板中按照如下方式加样

试剂	测定孔 (μL)
样本	5
Working Reagent	195

4. 吸光度检测：迅速混匀，立即测定 555 nm 处第 1 min 和 2 min 时吸光值，分别记录为 A_1 和 A_2 。测定孔记为 $A_{\text{测定}}$ 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A = A_1 - A_2$

2. 样本胰蛋白酶活性计算

● 按蛋白浓度计算

酶活单位定义：室温下每毫克蛋白质每分钟催化 555 nm 处吸光值减少 0.5 为 1 个酶活单位。

$$\text{胰蛋白酶(U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\text{Cpr} \times V_1) \div 0.5 \div T = 80 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

● 按样本鲜重计算

酶活单位定义：室温下每克组织每分钟催化 555 nm 处吸光值减少 0.5 为 1 个酶活单位。

$$\text{胰蛋白酶(U/g)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_1 \div V_2) \div 0.5 \div T = 80 \times \Delta A \div W$$

Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 组织质量, g; V_1 : 加入反应体系中粗酶液体积, 5 μL = 0.005 mL; V_2 : 粗酶液总体积, 1 mL; $V_{\text{反应}}$: 反应总体积, 0.2 mL; T: 反应时间, 1 min。

07 结果展示

示例-1: 取 0.13 g 小鼠脾脏，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A = A_1 - A_2 = 0.386 - 0.373 = 0.013$ 。按样本鲜重计算得：胰蛋白酶(U/g) = $80 \times \Delta A \div W = 8 \text{ U/g}$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 ΔA 过高或者过低怎么办？

如果 ΔA 小于 0.005，可将反应时间延长到 5 min。如果 ΔA 大于 0.5，样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释，或减少提取用样本量，再重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB2270	CheKine™ 酸性蛋白酶（ACP）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1380	CheKine™ β-淀粉酶活性检测试剂盒（微量法）
KTB1390	CheKine™ 淀粉分支酶（SBE）活性检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 胰蛋白酶活性检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB2320)

样本处理



动植物组织

1 mL Extraction Buffer
冰浴匀浆



10000 g，4℃离心10 min，取上清



体系配置

Working Reagent的配制：

临用前配制；根据用量按照Reagent I (V)
： Reagent II (V) ： 去离子水 (V) ：
Reagent III (V) =1 mL： 1 mL： 5.4 mL： 0.4
mL的比例充分混合，现配现用。

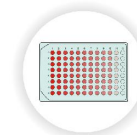


测定孔

样本 5 μL
Working Reagent 195 μL

迅速混匀

数据检测



测定1 min和2 min时555 nm吸光度
结果计算