



中华人民共和国国家标准

GB/T 33410—2016

生化试剂中蛋白酶 K 活性检测方法

Determination of the activity of protease K in biochemical reagents

2016-12-30 发布

2017-07-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由全国生化检测标准化技术委员会(SAC/TC 387)提出并归口。

本标准起草单位:深圳市计量质量检测研究院、中国测试技术研究院、中国标准化研究院。

本标准主要起草人:林霖、周李华、赖心田、兰全学、马爱进、陈国培、李浙、潘兰芳、杨国武。

生化试剂中蛋白酶 K 活性检测方法

1 范围

本标准规定了生化试剂中蛋白酶 K 活性检测方法。

本标准适用于分子生物学实验中使用的蛋白酶 K 活性的测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

蛋白酶 K 活性单位 protease K activity unit

在 55 °C, pH 8.0 时, 1 min 内水解酪蛋白产生 1 μg L-酪氨酸为一个酶活性单位。

注: 活性单位为 U/mg、U/g 或 U/mL。

4 原理

蛋白酶 K 是一种切割活性较广的丝氨酸蛋白酶, 可催化含有较多的丝氨酸位点的 α -酪蛋白水解。本方法中采用 α -酪蛋白为反应底物, 经蛋白酶 K 催化水解为 L-酪氨酸, 在 275 nm 处测定吸光度值。再通过测量各个浓度的 L-酪氨酸标准溶液在 275 nm 处的吸光度值, 并构建标准曲线得出线性回归方程, 以外标法定量。计算蛋白酶 K 的酶活性。

5 仪器设备及器具

5.1 恒温水浴锅: 控温精度 ± 0.2 °C。

5.2 pH 计: 精确至 0.01 pH。

5.3 紫外-可见分光光度计: 吸光度值精确至 0.001。

5.4 1 cm 石英比色皿。

5.5 电子天平: 感量 0.000 1 g。

6 试剂

除非另有规定, 本方法所用试剂均为分析纯, 水为 GB/T 6882 规定的三级水。