

N-(p-Tosyl)-Gly-Pro-Lys 4-Nitroanilide Acetate Salt

特异性高，背景低，5 min 充分显色，比传统法快 40%

产品货号：B42801

产品规格：5 mg, 25 mg

储运条件：-20 °C避光保存；避免反复冻融，冰袋运输。

产品简介：

N-(p-Tosyl)-Gly-Pro-Lys 4-Nitroanilide Acetate Salt是一款高灵敏度的多肽衍生底物，主要用于纤溶酶(plasmin)活性检测，同时适用于丝氨酸蛋白酶及纤维蛋白溶解系统的定量分析。本产品基于纤溶酶对特定肽键Gly-Pro-Lys序列的特异性识别与切割机制，结合显色化学原理，实现酶活性的精确定量。在纤溶酶催化下，底物肽键被精准切割，瞬时释放黄色对硝基苯胺(pNA)，一种黄色化合物。该产物可在 405 nm处实时监测吸光度变化，实现酶活性的高灵敏度定量。产品具有水溶性好、背景低、线性范围宽等优势，兼容 96/384 孔板，适用于动力学曲线绘制、药物抑制剂筛选及高通量分析，为生物化学研究、临床诊断和药物发现提供了可靠工具。

纤溶酶作为纤维蛋白溶解通路的核心酶，其活性调控在血栓溶解、组织修复及炎症反应中具有关键作用。传统法（琼脂糖纤维蛋白平板法）需铺板、打孔、过夜孵育并人工量溶圈，步骤繁琐、耗时长(6-18 h)，溶圈边缘模糊，批间CV常>10%，无法实现实时读数，已难以满足现代高通量与精准科研需求。本产品通过“序列-显色”一体化设计，将酶切事件即时转化为可量化的光信号，已成为纤溶酶、尿激酶型纤溶酶原激活剂(u-PA)、组织型纤溶酶原激活剂(t-PA)等丝氨酸蛋白酶活性测定的金标准。其高特异性与可重复性不仅推动了血栓与止血机制的基础研究，也为抗血栓新药的开发提供了关键工具，在疾病模型建立、药效评价及转化医学研究中具有不可替代的科学价值。

注：别名N-(对甲苯磺酰基)-甘氨酸-脯氨酸-赖氨酸-4-硝基苯胺乙酸盐、N-Tosylglycyl-L-prolyl-L-lysine 4-nitroanilide Acetate Salt、N-p-Tosyl-Gly-Pro-Lys-pNA Acetate Salt、Tos-Gly-Pro-Lys-pNA (acetate)；

注：效能等同Roche Chromozym® PL、Sigma-Aldrich Tos-Gly-Pro-Lys-pNA；

注：本文中 Chromozym®为罗氏(Roche)的商标及注册商标。

应用范围：纤溶酶活性定量（定量人血浆、重组纤溶酶及培养上清中的纤溶酶活性）；丝氨酸蛋白酶筛选（检测 t-PA、u-PA、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶及 aprE2、aprE5-41 等酰胺水解活性）；纤维蛋白原水解测定（评估纤维蛋白原降解速率并用于抑制剂筛选）；药物开发（高通量筛选抗血栓小分子或抗体对纤溶酶活性的抑制效果）；诊断试剂盒（作为显色底物组分用于血栓或纤溶系统功能体外诊断试剂）

产品特点：

- **超特异性：**Gly-Pro-Lys 核心基团，对纤溶酶选择性是胰蛋白酶 200 倍，背景极低；
- **超稳定：**≥98%纯度，CV≤2%，37 °C 24 h 降解<1%，无需复检；
- **超快速：**5 min 充分显色，30 min 完成酶活曲线，比传统法快 40%；
- **超线性：**0.5-50 mU 范围 R²>0.99，低活性同样精准；
- **超兼容：**适配 96/384 孔板、酶标仪/生化仪，血浆、上清、重组酶全适配。

产品参数：

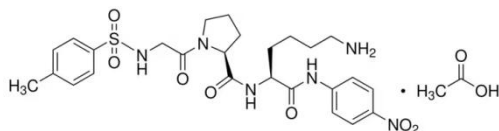
- **CAS 号：**88793-79-7；
- **分子式：**C₂₆H₃₄N₆O₇S·C₂H₄O₂；
- **分子量：**634.7；
- **外观：**白色至淡黄色粉末；
- **纯度：**≥98%(TLC)；
- **溶解度：**DMSO: 50 mg/mL；PBS（无 DMSO 体系）：1 mg/mL（需超声助溶）；



仅限体外科研用途 不得用于临床诊断或治疗
技术咨询 Contact@probelives.com
订购咨询 Sales@probelives.com

中文网址 www.probelives.cn
英文网址 www.probelives.com
Suzhou Probilives Technology CO., LTD.

● 分子结构图：



产品组分：

组分	300 T	1500 T
N-(p-Tosyl)-Gly-Pro-Lys 4-Nitroanilide Acetate Salt	5 mg	25 mg

注：以每次使用 50 μ L 染色工作液，染色工作液浓度 0.5 mM 计算。

注意事项：

- 操作时需佩戴一次性手套、护目镜，避免直接接触皮肤、黏膜或吸入粉尘。
- 本底物及其裂解产物对光敏感，全程避光操作（铝箔包裹、棕色管/板）。
- 避免与强氧化剂、强酸、强碱等物质接触，以防底物结构被破坏。
- 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请遵循您所在常规实验室安全规定。

使用说明：

一、实验前准备

1. 试剂准备：

- 底物储备液：将5 mg干粉溶于1 mL无水DMSO（终浓度5 mg/mL $\approx$ 7.88 mM），涡旋混匀，-20 $^{\circ}$ C避光分装（每管50-100 μ L），避免反复冻融。
- 工作液：临用前用PBS（pH7.4，无Ca²⁺/Mg²⁺）稀释储备液至0.5 mM（常用浓度）。

注：计算示例：取 63.5 μ L 储备液+936.5 μ L PBS，总体积 1 mL（终浓度=7.88 mM $\times$ 63.5/1000 $\approx$ 0.5 mM）。

注：若需无 DMSO 体系，可先将 1 mg 干粉溶于 50 μ L 无水乙醇，再缓缓加入 950 μ L 预热至 37 $^{\circ}$ C 的 PBS，当日用完。终反应体系 DMSO $\leq$ 1%，过高会抑制酶活性。

注：工作液浓度推荐范围为 0.1-1 mM，其中 0.5 mM 为常用浓度。0.1-0.5 mM：适用于低活性样本（如静息状态细胞、弱刺激处理组），保证检测灵敏度；0.5-1 mM：适用于高活性样本（如强刺激、大量细胞群体），避免信号饱和；超过 1 mM：可能导致背景升高或酶活性抑制，不建议使用。

2. 仪器准备：

- 酶标仪：比色法检测，405 nm吸收。
- 96/384孔板：黑色/透明均可，推荐透明板便于观察沉淀。

3. 对照组设置：

- 空白对照：仅含PBS+底物工作液，用于扣除背景吸光度。
- 阴性对照：样本+抑制剂(PMSF/Aprotinin)+底物工作液。
- 阳性对照：样本+重组人纤溶酶（用PBS稀释，50 mU/mL）+底物工作液。

注：抑制剂推荐 1 mM PMSF（丝氨酸蛋白酶抑制剂）或 1 mM Aprotinin（广谱蛋白酶抑制剂），能有效抑制纤溶酶活性，排除非特异性信号。

二、操作步骤

1. 加样程序（以 100 μ L 反应体系为例）：

步骤	孔位	加入试剂	终浓度/体积
空白对照	A1-A3	PBS+工作液	各加 50 μ L
阴性对照	B1-B3	样本+阴性对照品（阴性样本）+工作液	样本+对照品共 50 μ L，工作液 50 μ L



阳性对照	C1-C3	样本+阳性对照品（阳性样本）+工作液	样本+对照品共 50 μ L，工作液 50 μ L
待测样本	D1-H12	样本+工作液	各加 50 μ L

按照样本溶液：工作液=1：1 的比例添加到 96/384 孔板中。

注：此实验需要检测空白组、阴性组、阳性组、实验组。每组设三个复孔检测。往 96 孔板中加样时，不要产生气泡。

2. 孵育与检测：

（1）封板后轻敲混匀，置 37 $^{\circ}$ C 避光孵育箱反应。

（2）孵育结束后，立即放入酶标仪，每 15 s 读一次 405 nm 吸光度(OD₄₀₅)，持续 30 min（震荡 3 s）记录各孔吸光度值，计算平均值。

注：样本干扰：溶血、脂血、黄疸血浆在 405 nm 有本底吸收，需设“空白对照”扣背景；若样本自身 A₄₀₅>0.2，建议 1：5 稀释后重测。

注：酶切反应为即时释放（纤溶酶切割后立即释放 pNA），室温下信号衰减缓慢（可持续 30-60 min），仍可满足定性/半定量需求。避免样品在室温放置超过 1 h，防止信号完全衰减。

三、结果判读

1. 标准曲线绘制：

将重组人纤溶酶用 PBS 稀释为 0、2、10、25、50 mU/mL 系列，与底物工作液 1:1 混合，立即动力学读数，取线性斜率 Δ OD/min 对浓度作线性回归，强制过零， $R^2 \geq 0.99$ 方可投入使用。

注：数据处理：选取 5-20 min 线性区，用 Excel SLOPE 函数计算 Δ OD/min；对浓度作强制过零线性回归（ $y=kx$ ， $R^2 \geq 0.99$ ）。

2. 酶活性计算：

● 样本 Δ OD/min 代入标准曲线方程：活性(mU/mL)=（ Δ OD/min-截距）/斜率 $\times$ 稀释倍数。

常见疑问与解答：

● 问：线性范围是多少？

答：0.5-50 mU， $R^2 > 0.99$ ，超出请稀释样本再测，避免平台效应。

● 问：能否用荧光显微镜检测？

答：不能。本产品为显色底物（释放 pNA），需酶标仪检测；若需荧光检测，请选用带 AMC/FAM 基团的底物。

