



中华人民共和国国家标准

GB/T 47329—2026

胶原蛋白酶活性及纯度检测方法

Assay method of collagenase activity and purity

2026-03-31 发布

2026-07-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

目 次

前言 III

引言 IV

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 原理 1

5 试剂和材料 2

6 实验步骤 2

7 质量控制 5

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由全国工具酶标准化工作组(SAC/SWG 11)提出并归口。

本文件起草单位：深极美泰(山东)生物科技有限公司、华灿(厦门)生物医药有限公司、安徽盛美诺生物技术有限公司、惠州安博臣科技有限公司、深圳杉海创新技术有限公司、广东丸美生物技术股份有限公司、深圳市红瑞生物科技有限公司、夏禾(广州)光电生物科技有限公司、纽斯葆广赛(广东)生物科技股份有限公司、武汉新华扬生物股份有限公司、华慧海洋多糖生物技术(深圳)有限公司、武汉宏韧生物医药股份有限公司、北京健平金星生物医药有限公司、河南赛诺特生物技术有限公司、海南华研胶原蛋白科技股份有限公司、江苏创健医疗科技股份有限公司、深圳粒影生物科技有限公司、杭州纽龙生物科技有限公司、杭州纽龙日尚生物制品有限公司、福建赛福安全技术服务有限公司、山东大学、夏禾(杭州)生物技术有限公司、福建南生科技有限公司、夏禾(深圳)生物技术有限公司、北京索莱宝科技有限公司、南生(厦门)分析检测有限公司、大田华灿生物科技有限公司、复旦大学、苏州大学、福建农林大学、上海交通大学、浙江工商大学、厦门大学。

本文件主要起草人：陈秀兰、王琰、黄发灿、刘晶琦、巫伟真、张嘉恒、冷军、江运秋、徐丽、孙云起、赖利先、张杨、邹检平、李三华、赵子方、翟源心、葛建敬、钱永常、来灿钢、黄秀娟、张伟、潘威、王振元、徐菲、王永明、李长得、郑登忠、郭延巍、赵超、钟江、朱力、冯雁、姚鹃、邢志刚、杨忠华、傅玲琳、刘斌、郑恬烨、黄恩铭、丁重辉、张永有、李超。

引 言

胶原蛋白酶(collagenase, EC 3.4.24.3)是指在生理条件下能水解胶原蛋白三螺旋区域肽键的蛋白酶,包括动物源胶原蛋白酶和微生物源胶原蛋白酶。微生物源胶原蛋白酶来源于梭菌和弧菌,属 M9 家族的金属蛋白酶,其结构、催化机制和底物特异性类似。微生物源胶原蛋白酶已被广泛应用于生命科学研究中,如动物组织细胞解离、胶原蛋白降解、临床伤口清创、疤痕消除及食品工业胶原蛋白肽制备等。制定胶原蛋白酶活性及纯度检测方法的国家标准,用以促进生产和使用,对推动该类工具酶的产业化具有重要意义。

胶原蛋白酶活性及纯度检测方法

1 范围

本文件描述了微生物来源胶原蛋白酶活性及纯度的检测方法。
本文件适用于微生物来源胶原蛋白酶活性及纯度的检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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

胶原蛋白酶 collagenase

在生理条件下(37 ℃, pH 7.0)水解胶原蛋白三螺旋区域肽键的蛋白酶。

3.2

胶原蛋白酶活性单位 activity unit of collagenase

以 N -[3-(2-呋喃基)丙烯酰基]-亮氨酸-甘氨酸-脯氨酸-丙氨酸(FALGPA)为底物,在 pH 7.5、25 ℃以及 10 mmol/L 钙离子存在的条件下,胶原蛋白酶每分钟降解 1 μ mol 底物的酶量为一个活性单位。

4 原理

4.1 酶活性检测原理

FALGPA 是一种类似于胶原蛋白一级结构的合成多肽。所有 M9 家族胶原蛋白酶能特异性水解 FALGPA 序列中的亮氨酸和甘氨酸之间的肽键,引起该底物在 345 nm 处的吸光值(OD_{345})下降。因此,通过检测单位时间内反应体系的 OD_{345} 的降低值,即可根据标准曲线计算出胶原蛋白酶每分钟降解该底物的摩尔数。

4.2 酶纯度检测原理

凝胶过滤层析法是根据蛋白质分子大小不同分离蛋白混合物的有效方法。由于凝胶过滤层析过程中不同大小的蛋白质在层析柱中的出峰位置不同,因此可通过积分峰面积确定目的蛋白的占比。