

## 透明质酸酶 来源于绵羊睾丸

### H755162

#### 产品简介

从哺乳动物睾丸（例如羊睾丸）中提取的酶，能够水解透明质酸类型的粘多糖。它可能包含一个合适的稳定器。效力：每毫克（干燥物质）透明质酸酶活性最低 300 IU。

#### 生产

产生透明质酸酶的动物必须符合适合人类食用的动物的健康要求。

#### 特征

1. 外观：白色或黄白色，无定形粉末。
2. 溶解度：可溶于水，几乎不溶于丙酮和无水乙醇。

#### 鉴别

一种含有相当于 100 IU 的溶液透明质酸酶在 1 mL 的 9g/L 的氯化钠溶液中，将 10 g/L 的透明质酸钠 BRP 溶液在 20°C 下解聚，粘度显著降低。将透明质酸酶在 100°C 加热 30 min 会破坏这种作用。

#### 检查

1. 溶液外观：溶液应澄清。在水中溶解 0.10g，用相同的溶剂稀释至 10 mL。
2. pH：4.5 to 7.5。
3. 将 30 mg 溶解在无二氧化碳水中，用相同的溶剂稀释至 10 mL。
4. 干燥失重：最大浓度为 5.0%，在 60°C 下，在不超过 670Pa 的压力下干燥 2 小时，测定的浓度为 0.500 克。
5. 细菌内毒素：≤0.2 EU/IU。

#### 分析

透明质酸酶的活性是通过比较它水解透明质酸钠 BRP 的速率与使用国际标准获得的速率，或使用国际单位校准的参考制剂，使用斜率比测定。

基质溶液：在 25 mL 锥形瓶中加入 0.10 g 透明质酸钠 BRP，在 4°C 下缓慢加入 20.0 mL 水。加入速率必须足够慢，以使基质颗粒膨胀(约 5 min)。保持在 4 摄氏度，搅拌至少 12 小时。4°C 储存，4 天内使用。

对于测试溶液和参考溶液，准备溶液，并在 0°C 至 4°C 下进行稀释。

1. 检测溶液：将适当量的物质溶解在透明质酸酶稀释剂中，以获得每毫升含有  $0.6 \pm 0.3$  IU

的透明质酸酶的溶液。

2.对照溶液:溶解适当数量的透明质酸酶 BRP 在透明质酸酶稀释液中,得到每毫升含 0.6 IU 透明质酸酶的溶液。

在反应容器中,混合 1.50mL 的 pH 为 6.4 的磷酸盐缓冲溶液和 1.0 mL 的底物溶液,并在  $37\pm 0.1^{\circ}\text{C}$  下平衡。在时间  $t_0 : =0$  (第一计时计)添加 0.50 mL 含有 E 毫克检测酶的测试溶液,混合,使用合适的粘度计保持在  $37\pm 0.1^{\circ}\text{C}$  并记录流出时间  $t$ ,使用第二计时计(0.1 秒间隔),多次在约 20min(读第一计时计)。以下粘度计:微粘度计(DIN51 562, 第 2 部分),毛细管型 MII, 粘度计常数约  $0.1 \text{ mm}^2/\text{s}^2$ 。

使用 0.50mL 含透明质酸酶 BRP 的参考溶液重复该步骤。根据以下表达式计算粘度比:

$$\eta_r = \frac{k \times t_2}{0.6915}$$

$K$  = 粘度计常数为  $\text{mm}^2/\text{s}^2$ (在粘度计上表示);

$t_2$  = 溶液的流出时间(以秒为单位);

0.6915 = 缓冲溶液在  $37^{\circ}\text{C}$  时  $\text{mm}^2/\text{s}$  的运动粘度。

由于酶反应在流出时间测量期间继续,实际反应时间等于  $t_0 + t/2$ , 流出时间( $t/2$ )的一半,被加到测量开始的时间  $t_0$  中。图  $(\ln \eta)^{-1}$  作为反应时间的函数( $t_0 + t/2$ ),以秒为单位。得到了一个线性关系。计算待检测物质的坡度( $b$ )和参比制剂( $b_r$ )。根据表达式计算每毫克国际单位的比活性:

$$\frac{b_t}{b_r} \times \frac{E_r}{E_t} \times A$$

$A$  = 透明质酸酶 BRP 的比活性,国际单位每毫克。

至少执行三次完整的程序,并计算出待检查物质的平均活性。

## 贮存

密闭容器,温度  $2^{\circ}\text{C}$  到  $8^{\circ}\text{C}$ 。如果该物质是无菌的,则该容器也是无菌的和防被篡改的。