

pNAPEP-9101

Substrat du tPA

(identique au Pefachrom tPA™ Pentapharm)

REF 61039101



RUO

Usage Recherche



CRYOPEP

83 rue Yves Montand
F-34080 MONTPELLIER
Tél.: +33(0)4 67 10 71 20
Fax : +33(0)4 67 10 71 21
contact@cryopep.com
www.cryopep.fr

COMPOSITION

Flacon de 25 mg de pNAPEP-9101, soit 0.0389 mmol

Excipient : (D)-mannitol (80 mg/flacon)

La quantité exacte est indiquée sur le certificat d'analyses.

APPLICATION

Ce substrat chromogène est utilisé pour le dosage de l'activateur tissulaire du plasminogène. Il montre une sensibilité différente au tPA à chaîne unique natif (sc-tPA) et à sa forme à deux chaînes entièrement active (tc-tPA). Ceci permet une détermination différentielle de chaque forme moléculaire.

RECONSTITUTION

Reconstituer le flacon par 20 mL de l'eau distillée stérile pour obtenir une concentration jusqu'à 1.945 mmol/L.

Laisser la solution se stabiliser 30 minutes à température ambiante (18-25°C).

Homogénéiser avant utilisation.

STRUCTURE CHIMIQUE

Formule : CH₃SO₂-D-CHA-Gly-Arg-pNA, AcOH (Acétate de Acétate de méthanesulfonyl-D-cyclohexylalanine-glycyl-L-arginine-paranitroaniline)

Masse moléculaire : 642.7 g/mol

CONSTANTES PHYSICO-CHIMIQUES

Solubilité : > 40 mmol/L (H₂O)

ε_{316 nm} : 1.27 . 10⁴ mole⁻¹ . L . cm⁻¹

CONSERVATION

Forme lyophilisée :

Le produit doit être conservé à 2-8°C. Il est stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le produit. Eviter l'exposition à la lumière.

Conserver au sec, produit hygroscopique.

En solution aqueuse (2 - 10 mmol/L) :

Stable 3 mois à 2-8°C.

PRECAUTIONS

- Pour assurer une bonne stabilité du produit, refermer le flacon après usage avec son bouchon.
- Il faut éviter au maximum l'évaporation du produit pendant son utilisation.
- La contamination par des micro-organismes peut entraîner une hydrolyse.
- Une solution de substrat qui jaunit, indique une contamination et ne doit pas être utilisée. Reconstituer un flacon neuf.

PRINCIPE

Le taux de pNA libéré par hydrolyse enzymatique est quantifié par spectrophotométrie à 405 nm et est proportionnel à l'activité de l'enzyme.

DONNEES ENZYMATIQUES

Les constantes cinétiques suivantes ont été déterminées à 37°C en tampon tris-imidazole 50 mM, pH 8.4, I 0.3.

Enzyme	K _m (mmole/L)	V _{max} (nmole/µg tPA/min)
sc-t-PA simple chaîne	0.286	6.95
tc-t-PA double chaîne	3 . 10 ⁻⁴	33.9

L'activité tissulaire du plasminogène est insensible aux inhibiteurs mentionnés ci-dessous utilisés aux concentrations suivantes:

Trasylol :	30 KIU/mL
Inhibiteur de la trypsine (soja) :	50 mg/mL
Antithrombine :	0.1 PEU/mL
Héparine :	3 UI/mL

pNAPEP-9101

tPA substrate

(identical to Pefachrom tPA™ Pentapharm)

REF 61039101



RUO

Research Use Only



CRYOPEP

83 rue Yves Montand
F-34080 MONTPELLIER
Tél.: +33(0)4 67 10 71 20
Fax : +33(0)4 67 10 71 21
contact@cryopep.com
www.cryopep.com

COMPOSITION

Vial : 25 mg pNAPEP-9101, 0.0389 mmol

Bulking agent : (D)-mannitol (80 mg/vial)

The accurate quantity is indicated on analytical data sheet.

APPLICATION

This chromogenic substrate has been used for the determination of tissue plasminogen activator. It shows different sensitivity to native single-chain tPA (sc-tPA) and its fully active two-chain form (tc-tPA). This allows a differential determination of each molecular form.

REAGENT PREPARATION

Reconstitute the vial with 20 mL of sterile distilled water to obtain a concentration up to 1.945 mmol/L.

Let stand at room temperature (18-25°C) for 30 minutes.

Shake before use.

CHEMICAL STRUCTURE

Formula : CH₃SO₂-D-CHA-Gly-Arg-pNA, AcOH (Methanesulfonyl-D-cyclohexylalanin-glycyl-L-arginine-paranitroanilin acetate)

Molecular weight : 642.7 g/mol

PHYSICO-CHEMICAL DATA

Solubility : > 40 mmol/L (H₂O)

ε_{316 nm} : 1.27 . 10⁴ mole⁻¹ . L . cm⁻¹

STABILITY

Lyophilized powder :

Stable until the expiry date, if stored at 2-8°C. Avoid light exposure.

Keep in a dry place, hygroscopic product.

Aqueous solution (1 – 10 mmol/L) :

Stable for 3 months at 2-8°C.

PRECAUTIONS

- The product should be sealed in its original vial, following each use to ensure its stability.
- Minimize the evaporation of product during use.
- Contamination by microorganism may cause hydrolysis.
- Yellowing of the substrate indicates contamination, discard and use a new vial.

PRINCIPLE

The rate of pNA, released by enzymatic hydrolysis, is quantified by spectrophotometry at 405 nm and is proportional to the enzyme activity

ENZYMATIC DATA

The following kinetic constants were estimated at 37°C in Tris-imidazole buffer 50 mM pH 8.4, I 0.3.

Enzym	K _m (mmole/L)	V _{max} (nmole/µg tPA/min)
sc-t-PA one-chain	0.286	6.95
tc-t-PA two-chain	3 . 10 ⁻⁴	33.9

The tissue plasminogen activator is not affected by the following inhibitors used at the concentrations given.

Trasylol :	30 KIU/mL
Soybean trypsin inhibitor :	50 mg/mL
Antithrombin :	0.1 PEU/mL
Heparin :	3 UI/mL