

糜蛋白酶活性检测试剂盒(紫外分光光度法)

注意: 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号: BA1212

产品规格: 50管/48样

产品说明:

糜蛋白酶,又称胰凝乳蛋白酶,是胰腺分泌的一种蛋白水解酶,能迅速分解变性蛋白质。糜蛋白酶的功能与 胰蛋白酶相似,但是具有分解能力强、毒性低和不良反应小等优点。临床上糜蛋白酶用于痰液稀化,对脓性和非 脓性痰液均有效;也用于创伤或手术后伤口愈合,如白内障摘除。

糜蛋白酶催化 BTEE 水解,产物在256nm有特征光吸收;通过测定256nm光吸收增加速率,来计算糜蛋白酶活性。

产品内容:

提取液:液体50mL×1瓶,4℃保存。

试剂一:液体25mL×1瓶,4℃保存。

试剂二:粉剂×1瓶,-20℃保存。临用前溶于4mL甲醇中,再用水定容至25mL。可分装后-20保存,避免反复冻融。

试剂三:液体5mL×1瓶,4℃保存。

需自备的仪器和用品:

紫外分光光度计、台式离心机、水浴锅、移液器、 1mL 石英比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤:

一、粗酶液提取

- (1)组织:按照组织质量(g):提取液体积(mL)1:5-10的比例(建议称取约0.1g组织,加入1mL试剂一进行冰浴匀浆。8000g,4℃离心10min,取上清即粗酶液。
- (2) 血清(浆):直接检测。

二、测定操作:

- 1. 紫外分光光度计预热30 min以上,调节波长到256nm,蒸馏水调零。
- 2. 试剂一置于25℃水浴中保温30min。
- 3. 操作表:

试剂名称(μL)	测定管
试剂一	450
试剂二	450
试剂三	100
样品	100

将上述试剂分别加入1mL石英比色皿后充分混匀,于256nm处测定初始吸光值A1,然后迅速将比色皿连同反应液放入25°C水浴锅中水浴3min,然后迅速拿出擦干测定3min的吸光A2,计算 \triangle A=A2-A1。

三、糜蛋白酶活性计算公式:

(1) 按蛋白浓度计算

活性单位定义: 25℃每毫克蛋白每分钟水解1µmol BTEE为一个酶活单位。



Zheng zhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd 地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号 免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799 Q Q: 807961520 731791866 邮箱: zzlybio@126.com

扫一扫 加微信



糜蛋白酶活(U/mg prot)= ($\triangle A \times V$ 反总÷ ϵ ÷d)÷(Cpr×V样)÷T=3.8× $\triangle A$ ÷Cpr。

(2) 按样本质量计算

(3) 按血清(浆)体积计算

活性单位定义: 25 ℃每毫升血清(浆)每分钟水解 1μ mol BTEE为一个酶活单位。 糜蛋白酶活(U/mL)=(\triangle A×V反总÷ ϵ ÷d)÷V样÷T=3.8× \triangle A。

V样:加入反应体系中粗酶液体积,0.02mL; Cpr:粗酶液蛋白浓度,mg/mL,需要另外测定; W:样本鲜重,g; V反总:反应总体积,0.22 mL; V提取:加入提取液体积,1mL; T:反应时间,3 min; ε:BTEE消光系数:0.964 mL/μmol/cm; d:比色皿光径,1cm。

注意事项:

- 1. 当△A大于0.2或者吸光值大于1时,建议将样品稀释后测定。
- 2. 当△A 小于 0.03 时,建议将样品浓缩或者增加样品体积进行测定,注意计算公式除以浓缩倍数或者改变体积。