

## 糜蛋白酶活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1213

产品规格：100管/96样

### 产品简介：

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。

**注意：**实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体10mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	-20℃
试剂三	液体5mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前溶于1.6 mL甲醇中，再用水定容至10mL。可分装后-20℃保存，避免反复冻融。

### 需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、移液器、微量石英比色皿/96孔板、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/酶标仪预热30min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（ $\mu$ L）	测定管
试剂一	90
试剂二	90
试剂三	20
样品	20

将上述试剂分别加入微量石英比色皿/石英96孔板后充分混匀，于256nm处测定初始吸光值A1和3min时的吸



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou 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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

光值A2，计算 $\Delta A=A2-A1$ 。

### 三、糜蛋白酶活性计算公式：

#### A、按微量石英比色皿计算：

##### 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1 $\mu$ mol BTEE为一个酶活单位。

糜蛋白酶活(U/mg prot)=( $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div \epsilon \div d$ ) $\div$ (Cpr $\times V_{\text{样}}$ ) $\div T=3.8 \times \Delta A \div Cpr$ 。

##### 2. 按样本质量计算

活性单位定义：25度每克样品每分钟水解1 $\mu$ mol BTEE为一个酶活单位。

糜蛋白酶活(U/g 鲜重)=( $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div \epsilon \div d$ ) $\div$ (W $\times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}$ ) $\div T=3.8 \times \Delta A \div W$ 。

##### 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1 $\mu$ mol BTEE为一个酶活单位。

糜蛋白酶活(U/mL)=( $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div \epsilon \div d$ ) $\div V_{\text{样}} \div T=3.8 \times \Delta A$ 。

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，3min； $\epsilon$ ：BTEE消光系数：0.964 mL/ $\mu$ mol/cm；d：比色皿光径，1cm。

#### B、按96孔UV板计算：

将上述计算公式中的d-1cm改为d-0.6cm（96孔板光径）进行计算即可。

#### 注意事项：

1. 当 $\Delta A$ 大于0.15或者吸光值大于1时，建议将样品稀释后测定。
2. 当 $\Delta A$ 小于0.04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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou 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