

CheKine™ 糜蛋白酶活性检测试剂盒（微量法）

Cat #: KTB2330

Size: 48 T/48 S

96 T/96 S

	糜蛋白酶活性检测试剂盒（微量法）		
REF	货号: KTB2330	LOT	批号: 见产品标签
	适用样本: 动植物组织、血清（浆）或其他液体		
	保质期: 4℃避光保存 6 个月		

原理

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；也用于创伤手术后伤口愈合，如白内障摘除。糜蛋白酶催化 ATEE 水解，产物在 237 nm 有特征光吸收；通过测定 237 nm 光吸收增加速率，来计算糜蛋白酶活性。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Reagent I	60 mL	120 mL	4℃
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存

注意：正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或紫外分光光度计（能测 237 nm 处的吸光度）
- 96 孔 UV 板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头
- 恒温水浴锅、恒温箱、制冰机、离心机
- 去离子水
- 匀浆器或研钵（如果是组织样本）

试剂准备

Reagent I: 即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

Reagent II: 临用前配制；48 T 加入 12 mL 去离子水，96 T 加入 24 mL 去离子水充分溶解；用不完的试剂 4℃避光可以保存 3 天。

样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

1. 动物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Reagent I，冰浴匀浆，8,000 g，4℃离心 10 min，取上清，即粗酶液，置冰上待测。

2. 血清（浆）等液体样本：直接检测。

注意：如需测定蛋白浓度，推荐使用 Abbkine 货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 237 nm，紫外分光光度计用去离子水调零。

2. Reagent II 置于 37℃孵育 30 min。

3. 操作表（下述操作微量石英比色皿或 96 孔 UV 板中进行）：

试剂	测定孔 (μL)	空白孔 (μL)
样本上清	20	0
Reagent I	0	20
Reagent II	200	200

充分混匀，于 237 nm 测定 4 min 内吸光值变化，分别记为 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{空白}}$ （从吸光值稳定增加开始计时），计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

注意：空白孔只需做 1-2 次。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 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.01 可适当加大样本量。

如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 1.0，样本可用 Reagent I 进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

糜蛋白酶活性的计算：

(1) 按蛋白浓度计算

活性单位定义：25℃每 mg 蛋白每分钟催化吸光值增加 1 为一个酶活单位。

糜蛋白酶 (U/mg prot) = $\Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反应}} \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 2.75 \times \Delta A_{\text{测定}} \div Cpr$

(2) 按样本质量计算

活性单位定义：25℃每 g 组织每分钟催化吸光值增加 1 为一个酶活单位。

糜蛋白酶 (U/g 鲜重) = $\Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2.75 \times \Delta A_{\text{测定}} \div W$

(3) 按样本体积计算

活性单位定义：25℃每 mL 血清每分钟催化吸光值增加 1 为一个酶活单位。

糜蛋白酶 (U/mL) = $\Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div T = 2.75 \times \Delta A_{\text{测定}}$

$V_{\text{反应}}$ ：反应总体积，0.22 mL； Cpr ：样本蛋白浓度，mg/mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入 Reagent I 总体积，1 mL； T ：反应时间，4 min； W ：样品质量，g。

结果展示

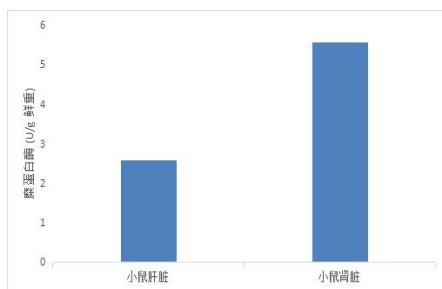


Figure 1. 本试剂盒测定小鼠肝脏和小鼠肾脏中糜蛋白酶的活性

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1015	CheKine™ α-葡萄糖苷酶活性检测试剂盒（微量法）
KTB1121	CheKine™ 丙酮酸（PA）含量检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。