

## 糜蛋白酶/胰凝乳蛋白酶检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1136

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/48S 96T/96S

适用样本：动物组织

### 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。本试剂盒提供了一种简单、快速的糜蛋白酶检测方法，其检测原理是：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

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	60mL	120mL	4℃ 保存
试剂一	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃ 避光保存

### 自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测 256nm 处的吸光度）  
 恒温箱、制冰机、低温离心机  
 96 孔 UV 板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头  
 去离子水、无水乙醇  
 匀浆器

### 试剂准备

提取液：即用型；4℃ 保存。

试剂一：临用前每瓶加入 1mL 无水乙醇，充分溶解，然后加入 9mL 提取液。未用完的试剂分装后-20℃ 避光保存，避免反复冻融。

### 样本制备

称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，8,000g，4℃ 离心 10min，取上清液，置冰上待测（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）。

**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。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。**

### 实验步骤

1. 酶标仪或紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 256nm，紫外分光光度计去离子水调零。
  2. 试剂一置于 37℃ 预热 30min。
  3. 样本测定：在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入 20 μL 样本，180 μL 试剂一；充分混匀后，测定 256nm 处 1min 时的吸光值记为  $A_1$ ，37℃ 孵育以后测定 6min 时的吸光值记为  $A_2$ 。计算  $\Delta A = A_2 - A_1$ 。
- 注意：1. 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  $\Delta A$  小于 0.005 可适当加大样本量。如果  $\Delta A$  大于 0.35 或者  $A_1$  大于 1.5 时，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。**
2. 测定反应的温度对测定结果有影响，请控制在 37℃。

## 产品说明书

3. 因通过反应速率计算酶活，使用 96 孔板时请根据操作速度控制一次测定的样本数（通常一次测定 4-8 个样本）

### 结果计算

A. 使用 96 孔板测定的计算公式

1. 按照蛋白浓度计算

活性单位的定义：37°C 下每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化水解 1 μmol BTEE 为 1 个酶活单位。

糜蛋白酶 (U/mg prot) =  $[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}}] \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T \times n = 4.15 \times \Delta A \div Cpr \times n$

2. 按照样本质量计算

活性单位的定义：37°C 下每 g 组织在反应体系中每分钟催化水解 1 μmol BTEE 为 1 个酶活单位。

糜蛋白酶 (U/g 鲜重) =  $[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times n = 4.15 \times \Delta A \div W \times n$

$\epsilon$ ：BTEE 水解产物摩尔消光系数，0.964mL/μmol/cm；d：96 孔板光径，0.5cm； $V_{\text{反总}}$ ：反应总体积，0.2mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL，需要自行测定； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中样本体积，0.02mL；T：反应时间，5min；W：样本质量，g； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；n：稀释倍数。

B. 使用微量玻璃比色皿进行测定的计算公式

将上述计算公式中的光径 d：0.5cm 调整为 d：1cm 进行计算即可。

### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

PMK1933 胰蛋白酶检测试剂盒（BAPNA 法）

PMK1135 胃蛋白酶检测试剂盒（微量法）

PMK1131 酸性蛋白酶检测试剂盒（微量法）

PMK1132 中性蛋白酶检测试剂盒（微量法）

PMK1133 碱性蛋白酶检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

