

使用说明书

Instruction Manual

糜蛋白酶活性检测试剂盒（微量法）

Chymotrypsin Assay Kit (Microanalysis)

产品描述

糜蛋白酶 (Chymotrypsin) 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。

检测原理

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。

产品组成及储存条件

100T/96S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0052M-A	50mL×1 瓶	4℃保存。
CB0052M-B	粉剂×1 瓶	4℃避光保存；临用前加入 20mL 蒸馏水充分溶解。

注：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

操作说明

一、自备用品：

紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、水浴锅、天平、烘箱、玻璃管、离心机、可调式移液枪、蒸馏水。

二、粗酶液提取：

- 组织样品：按照组织质量(g):CB0052M-A 体积(mL)为 1:5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL CB0052M-A)冰浴匀浆，8000g，4℃离心 10min，取上清，即粗酶液。
- 血清等液体：直接测定。

三、测定步骤：

- 分光光度计/酶标仪预热30min，调节波长到237 nm，蒸馏水调零。
- CB0052M-B 置于37℃水浴中保温30min。
- 取微量玻璃比色皿或 96 孔板加入下列试剂：

试剂名称	空白管 (μL)	测定管 (μL)
CB0052M-A	20	
CB0052M-B	200	
混匀于 237nm 测定 4min 内吸光值变化, 记为ΔA 空白管 (从吸光值稳定增加开始计时)。		
粗酶液		20
CB0052M-B		200
上清液		20
混匀于 237nm 测定 4min 内吸光值变化, 记为ΔA 测定管 (从吸光值稳定增加开始计时)。		

注：空白管只需测定 1 次。

四、糜蛋白酶活性计算公式：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

(1) 按蛋白浓度计算

活性单位定义：25℃每毫克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) = $(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{反应}} \div (C_{\text{pr}} \times V_1) \div T = 2.75 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div C_{\text{pr}}$

(2) 按样本质量计算

活性单位定义：25℃每克样品每分钟催化吸光值增加 1 为一个酶活单位。

糜蛋白酶 (U/g) = $(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_1 \div V_2) \div T = 2.75 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div W$

注：W：样品质量 (g)；Cpr：粗酶液蛋白质浓度 (mg/mL)，需要另外测定；V1：加入反应体系中粗酶液体积 (mL)，20μL=2×10⁻² mL；V2：粗酶液总体积 (mL)，1 mL；V 反应：反应总体积，220μL=0.22mL；T：反应时间 (min)，4min。

b. 使用 96 孔板测定的计算公式如下

(1) 按蛋白浓度计算

活性单位定义：25℃每毫克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) = $(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{反应}} \div (C_{\text{pr}} \times V_1) \div T = 2.75 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div C_{\text{pr}}$

(2) 按样本质量计算

活性单位定义：25℃每克样品每分钟催化吸光值增加 1 为一个酶活单位。

糜蛋白酶 (U/g) = $(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_1 \div V_2) \div T = 2.75 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div W$

注：W：样品质量 (g)；Cpr：粗酶液蛋白质浓度 (mg/mL)，需要另外测定；V1：加入反应体系中粗酶液体积 (mL)，20μL=2×10⁻² mL；V2：粗酶液总体积 (mL)，1 mL；V 反应：反应总体积，220μL=0.22mL；T：反应时间 (min)，4min。

注意事项

1. 测定前须先取 1-2 个样做预实验，使得吸光值在 5min 内呈线性变化。测定过程操作须迅速。
2. CB0052M-B 试剂配制好后 3 天内使用完。
3. 蛋白定量测定，建议使用 TargetMol 生产的 BCA Protein Quantification Kit (C0050)。
4. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

