

## 糜蛋白酶 (Chymotrypsin) 试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

### 测定意义：

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。

### 测定原理：

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。

### 组成：

产品名称	PI011-50T/48S	Storage
试剂一：液体	50ml	4°C
试剂二：粉剂	1 瓶	避光保护°C

试剂二：粉剂×1 瓶，4°C 避光保存。临用前加入 50 ml 蒸馏水充分溶解。

### 自备仪器和用品：

紫外分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1ml 石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

### 粗酶液提取：

组织样品：按照组织质量 (g)：试剂一体积(ml)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1ml 试剂一）冰浴匀浆，8000g，4°C 离心 10min，取上清，即粗酶液。

### 测定步骤：

1. 分光光度计预热 30min，调节波长到 237 nm，蒸馏水调零。
2. 试剂二置于 37°C 水浴中保温 30min。
3. 空白管：取 1mL 石英比色皿，加入 **100μL 试剂一**，1000μL 试剂二，混匀于 237nm 测定 4min 内吸光值变化，记为  $\Delta A$  空白管。（从吸光值稳定增加开始计时）
4. 测定管：取 1mL 石英比色皿，加入 **100μL 粗酶液**，1000μL 试剂二，混匀于 237nm 测定 4min 内吸光值变化，记为  $\Delta A$  测定管。（从吸光值稳定增加开始计时）

注意：空白管只需要测定一次。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线：0518-81263339

官网：<http://www.bio149.com>

**糜蛋白酶活性计算公式：**

(1) 按照蛋白浓度计算

活性单位定义：25°C每毫克蛋白每分钟催化吸光值增加 1 为一个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{糜蛋白酶 (U/mg prot)} &= (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \times V \text{ 反总} \div (\text{Cpr} \times V1) \div T \\ &= 2.75 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

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)，100 $\mu$ l=0.1 ml；

V 反总: 反应总体积，1100 $\mu$ l=1.1ml；T: 反应时间 (min)，4min。

(2) 按照样本质量计算

活性单位定义：25°C每克样品每分钟催化吸光值增加 1 为一个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{糜蛋白酶 (U/g 鲜重)} &= (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \times V \text{ 反总} \div (W \times V1 \div V2) \div T \\ &= 2.75 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div W \end{aligned}$$

W: 样品质量 (g)；V1: 加入反应体系中粗酶液体积 (ml)，100 $\mu$ l=0.1 ml；V2: 粗酶液总体积 (ml)，1 ml；V 反总: 反应总体积，1100 $\mu$ l=1.1ml；T: 反应时间 (min)，4min。

**注意事项：**

临用前配制的试剂配置好后 3 天内使用完毕。

