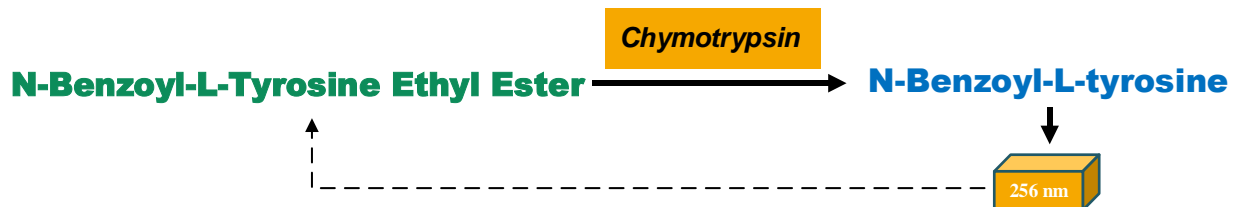




糜蛋白酶 (Chymotrypsin) 活性检测试剂盒
Chymotrypsin Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



糜蛋白酶（Chymotrypsin）活性检测试剂盒

Chymotrypsin Activity Assay Kit

一、产品描述

糜蛋白酶（Chymotrypsin）又称胰凝乳蛋白酶，是丝氨酸蛋白酶家族中重要的蛋白水解酶，通常以胰凝乳蛋白酶原的形式存在，与胰蛋白酶作用类似，通过切断蛋白质肽链中酪氨酸和苯丙氨酸的羧基端肽链，专一性水解羧基端芳香族氨基酸或侧链大体积疏水性残基甲硫氨酸等起到肽链内切酶的作用，具有分解能力强、毒性低和不良反应小等特点在临床和工业领域具有广泛应用。

糜蛋白酶能够催化苯甲酰-L-酪氨酸乙酯（N-Benzoyl-L-Tyrosine Ethyl Ester, BTEE）水解，产物在 256 nm 具有特征吸收峰，通过吸光值的变化即可表征糜蛋白酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 10 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C保存	使用前加入 1.6 mL 甲醇充分溶解后 使用蒸馏水定容至 10 mL (可分装后-20°C保存, 避免反复冻融)
试剂三	液体 5 mL×1 瓶	4°C保存	-

需自备试剂：甲醇（CH₃OH, AR, MW=32.04, CAS: 67-56-1）

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿（光径 10 mm）/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴、甲醇和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织样本质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2. 测定步骤

- ① 紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 256 nm，蒸馏水调零。
- ② 试验前将试剂一 25°C 预热 30 min。
- ③ 在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
试剂一	90
试剂二	90
试剂三	20
粗酶液	20

吸光值测定：① 迅速混匀并开始计时，测定 10 s（总时间）时 256 nm 处吸光值，记为 A1；② 准确反应 180 s 后，测定 190 s（总时间）时 256 nm 处吸光值，记为 A2；③ 计算 ΔA 测定 = A2 - A1。

3. 糜蛋白酶（Chymotrypsin）活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板进行测定的计算

① 按组织蛋白浓度计算

单位定义：25°C 条件下，每 mg 蛋白每分钟水解 1 μmol BTEE 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Chymotrypsin (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{\epsilon \times d_1 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{7.6 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

② 按组织样本质量计算

单位定义：25°C 条件下，每 g 组织样本每分钟水解 1 μmol BTEE 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Chymotrypsin (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}}}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{7.6 \times \Delta A}{W}$$

③ 按液体样本体积计算

单位定义：25°C 条件下，每 mL 液体样本每分钟水解 1 μmol BTEE 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Chymotrypsin (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 7.6 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 反总：反应体系总体积，0.22 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL； ϵ ：BTEE 消光系数：0.964 mL/ $\mu\text{mol}/\text{cm}$ ； d_1 ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，180 s = 3 min。

3.2 使用微量石英比色皿进行测定的计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：25°C条件下，每 mg 蛋白每分钟水解 1 μmol BTEE 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Chymotrypsin (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{\varepsilon \times d_2 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{3.8 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：25°C条件下，每 g 组织样本每分钟水解 1 μmol BTEE 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Chymotrypsin (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}}}{\varepsilon \times d_2 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{3.8 \times \Delta A}{W}$$

③按液体样本体积计算

单位定义：25°C条件下，每 mL 液体样本每分钟水解 1 μmol BTEE 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Chymotrypsin (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{\varepsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times T} = 3.8 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 反总：反应体系总体积，0.22 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL；ε：BTEE 消光系数：0.964 mL/μmol/cm；d₂：微量石英比色皿光径，1 cm；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，180 s = 3 min。

四、注意事项

- ①若ΔA 大于 0.15 或者 A1 大于 1 时，建议将粗酶液适当稀释后进行测定；若ΔA 小于 0.05 时，建议将样品浓缩或者适当增加样品量后再进行测定，计算时相应修改；
- ②样品处理等过程均需要在冰上进行，以免失活，样品制备后需当日完成测定；
- ③准确在 10 s 和 190 s 处完成读数，以保证实验结果的准确性和重复性；若使用 96 孔 UV 板进行检测应使用多道移液器且分批进行检测，以确保组间时间一致；
- ④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

