

总蛋白酶活性测定试剂盒

微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使 用 说 明 书

货号：JL-T1375

有效期：6个月

规格：48T(24S)/96T(48S)

保存温度：2-8℃

实验原理：

蛋白酶活力通常利用天然底物和合成底物进行测定。各种蛋白酶均可水解天然底物酪蛋白因此由酪蛋白测得的活力是蛋白酶的总活力。本试剂盒利用总蛋白酶催化水解偶氮酪蛋白，生成的产物于 366nm 有光吸收，通过测定吸光值的变化得出总蛋白酶活性大小。本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（货号：JL-T0336）。

检测范围：0.415-12.45U/mL 灵敏度：0.415U/mL

注意事项：

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

产品组成:

试剂名称	规格 (48T/20S)	规格 (96T/44S)	保存条件
提取液	60mL×1 瓶	120mL×1 瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃, 避光
试剂二	10mL×1 瓶	15mL×1 瓶	2-8℃
试剂三	20mL×1 瓶	40mL×1 瓶	2-8℃, 避光

所需仪器耗材及试剂:

离心机、酶标仪、石英酶标板、可调式移液器、蒸馏水。

样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**，建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.415-12.45U/mL，如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩，样本的稀释液为蒸馏水。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性。
3. **组织样本**：按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例（建议取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液）进行匀浆，匀浆后，4℃，10000 g 离心 10min，取上清置冰上待测。如需检测蛋白浓度，可留取部分上清用于蛋白浓度测定。

咨询电话：400-0066-400

网址：www.jonln.com

4. **细菌、细胞样本**：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌/细胞数量 (10^4)：提取液 (mL) 为 500~1000：1 的比例(建议按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液)，超声波破碎细菌或细胞 (功率 200w, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次), 4°C, 10000 g, 离心 10min, 取上清待测。
5. **血清 (浆) 等液体样本**：直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

检测前准备工作：

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. 试剂一：临用前取一瓶加入 7mL 的蒸馏水溶解混匀备用。

操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 366nm, 板孔请使用石英板。
2. 样本测定 (在 Ep 管中依次加入) :

试剂名称(μL)	测定管	对照管
样本	120	120
试剂一	120	
试剂二	120	120
混匀, 30°C 孵育 60min		
试剂三	360	360
试剂一		120
立即混匀, 低温 (放冰上) 静置 5min; 室温 12000 g 离心 5min, 直接取 200 μL 至 96 孔板中, 于 366nm 处读值。		

注:

1. 若 ΔA 在零附近徘徊, 可以延长 30°C 孵育时间 T (如延长至 90min) 或增加样本取样质量 W (如增至 0.2g), 则改变后的反应时间 T 和 W 需代入计算公式重新计算。
2. 由于测定样本时必须做对照组, 本试剂盒 48T 只能测 24 个样, 96T 测 48 个样。

实验结果结算：

1. 按样本鲜重计算：

定义：每克组织每小时反应体系中变化 1 个吸收单位定义为 1 个偶氮酪蛋白单位。

总蛋白酶(偶氮酪蛋白单位/h/g 鲜重) $=\Delta A \div 1 \div (W \times V_1 \div V) \div T = 8.3 \times \Delta A \div W$

2. 按样本蛋白浓度计算：

定义：每毫克组织蛋白每小时反应体系中变化 1 个吸收单位定义为 1 个偶氮酪蛋白单位。

总蛋白酶(偶氮酪蛋白单位/h/mg prot) $=\Delta A \div 1 \div (V_1 \times C_{pr}) \div T = 8.3 \times \Delta A \div C_{pr}$

3. 按细菌/细胞数量计算：

定义：每 10^4 个细菌/细胞每小时反应体系中变化 1 个吸收单位为 1 个偶氮酪蛋白单位。

总蛋白酶(偶氮酪蛋白单位/h/ 10^4 cell) $=\Delta A \div 1 \div (500 \times V_1 \div V) \div T = 0.02 \times \Delta A \div C_{pr}$

4. 按液体体积计算：

定义：每毫升液体每小时反应体系中变化 1 个吸收单位定义为 1 个偶氮酪蛋白单位。

总蛋白酶(偶氮酪蛋白单位/h/mL) $=\Delta A \div 1 \div V_1 \div T = 8.3 \times \Delta A$

注:

V: 加入提取液体积, 1mL

V₁: 加入样本体积, 0.12mL

W: 样本质量, g

T: 反应时间, 60min=1h

500: 细胞数量, 万

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL

△A: 测定孔 OD 值-对照孔 OD 值。

参考样本数据:

以下数据仅供参考:

样本类型	稀释倍数	参考值
菠萝肉 (10%匀浆)	不稀释	337.44U/g
猕猴桃 (10%匀浆)	不稀释	17.5U/g
小鼠肾 (10%匀浆)	不稀释	7.08U/g
小鼠肠 (10%匀浆)	不稀释	3.8U/g

咨询电话：400-0066-400

传 真：021-55660885

电子邮箱：shjlsw@163.com

网 址：www.jonln.com