天净沙系列

CAT#:EC3.4.17.2

低温运输，-20℃保存

天净沙

羧肽酶 B 活性测定试剂盒

CPB Assay Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品用于测定羧肽酶 B（Carboxypeptidase B，CPB，EC3.4.17.2）活性。其原理是该酶可以催化特异反应，其中一个产物在 254 nm 处有特征光吸收，故以之为测定物，它在该波长下的光吸收变化速度可反映其在反应中的转换速度，由此可测定 CPB 活性。本产品具有如下特点：

1. 即开即用，使用便捷，用户不需要优化条件，只需准备待测样本。
2. 本产品足够 100 次 1 mL 体系的比色皿检测或 400 次 250 μL 体系的 96 孔板检测。
3. 本产品的起始材料是制备好的待测样本。本试剂盒不包括样本制备试剂，如果有需要可联系本公司另购。
4. 本产品只可用于科研。

规格及成分

本产品采用 logo 热封袋包装

成份	编号	规格	包装
CPB 底物溶液	EC3.4.17.2s	50 mL	60 mL 本色瓶
CPB 反应液	EC3.4.17.2r	50 mL	60 mL 本色瓶
CPB 阳性对照 (0.125 mg/mL)	EC3.4.17.2sd	1 mL	1.5 mL 红盖管
使用手册	EC3.4.17.2sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期一年。

自备试剂

待测样品，样本溶解液，超纯水，蛋白浓度测定试剂盒，比色皿及与之匹配的分光光度计，96 孔板及与之匹配的分光光度计。

使用方法

一、制备待测样本

1. 用自选方式制备待测样本，测定蛋白浓度，用 CPB 反应液将待测样本稀释至 0.0625-0.25 mg 总蛋白/mL 范围之内，如果过稀，则需要浓缩至此范围。记录样本蛋白浓度，以备后续计算酶比活时使用。
2. 待测样本的 pH 值最好在反应的最适 pH 附近，否则加入到反应中后可能会改变反应的 pH；待测样本中也不得含有高浓度的、在 254 nm 有光吸收的物质，不得含有能抑制 CPB 活性的成份，也不得含有能提高或降低测定物浓度的无关酶。
3. 预留 100 μL 待测样本（N 个样中随机取一个），100℃水浴 10 分钟灭活其中的酶，放冰上待用。此为酶阴性对照。如果酶耐热，不能热灭活，则用制备待测样本时所用的抽提液替代。
4. 将分光光度计开机预热 30 分钟，然后用超纯水调零。

七、消光系数法的样本测定

5. 按下表设置反应。酶阳性对照可以在首次实验或遇到问题需要查找原因时才使用。

成分	阴性对照管	阳性对照管	N 个样本管
CPB 底物液	500 μL	500 μL	各 500 μL
CPB 反应液	480 μL	480 μL	各 480 μL
酶阴性对照 (来于第 2 步)	20 μL	不加	不加
CPB 阳性对照	不加	20 μL	不加
N 个待测样本	不加	不加	各 20 μL

6. 快速混匀并转移到比色皿中在 254 nm 波长下测光吸收 A。每隔半分钟测一次，共测 3 分钟，每个管的样品将得到 6 个测定值。

八、数据处理

7. 4. 以 A 对时间作图，取反应最初线性部分，计算出每分钟 A 的增加值（△A/min）为 $\triangle A_{254nm/min}$ = 待测样本△A/min 测定值 - 阴性对照△A/min 测定值。

8. 计算公式：U/mg（单位/mg） = $\triangle A_{254nm/min}$ / (0.12 × 蛋白浓度 mg/mL)

九、96 孔板检测

9. 操作同上，只是在设置反应时，各成份的用量需要×25%。在计算时，需将 1 mL 的反应体积改成 0.25 mL，需将 1 cm 的光径改成所用 96 孔板的光径（需询问 96 孔板厂家）。

关联产品	羧肽酶 B 抽提试剂盒