

胃蛋白酶 (Pepsin) 试剂盒说明书

(货号: ADS-F-D005 分光法 24 样)

一、产品简介:

胃蛋白酶 (Pepsin) 是一种消化性蛋白酶, 由胃粘膜主细胞分泌, 分解食物中蛋白质成小肽段。一般用于神经性低酸症的鉴别, 慢性胃炎、慢性胃扩张、慢性十二指肠肠炎等症状时也会引起胃蛋白酶分泌的减少。

胃蛋白酶可催化血红蛋白水解生成含酚的氨基酸, 含酚的氨基酸与福林酚反应后显蓝色; 其颜色的深浅与胃蛋白酶活性呈正比。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体 30mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂一	液体 5mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂二	粉体 2 瓶	4℃ 保存	临用前甩几下使粉体落入底部, 每瓶再加 13mL 蒸馏水溶解备用。
试剂三	液体 30mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂四	液体 6mL×1 瓶	4℃ 保存	
标准品	粉体 1 支	4℃ 保存	临用前加 2mL 提取液, 再用蒸馏水稀释 10 倍, 即为 0.05mg/mL 酪氨酸。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、台式离心机、可调式移液器、天平、研钵、冰和蒸馏水。

四、胃蛋白酶活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本:

取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。4℃×3500rpm 离心 5min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例进行提取

② 液体样本: 液体用提取液按照 1:1 的比例混合稀释后, 4℃×3500rpm, 离心 5min, 取上清液检测。

2、上机检测:

① 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 680nm, 蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至室温。

③ 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	100	100
试剂一		100

37°C 孵育 5min		
试剂二	500	500
37°C 孵育 10min		
试剂一	100	
37°C 孵育 5min 后, 3000rpm 离心 5min, 上清液待测。		

④ 显色反应, 在 EP 管中:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
上清液	120	120		
标准品			120	
提取液				120
试剂三	600	600	600	600
试剂四	120	120	120	120
37°C 孵育 20min 后 (若浑浊则室温 3000rpm 离心 5min), 全部澄清反应液至 1mL 比色皿中, 于 680nm 处测定, 读取各管的吸光值 A。ΔA=A 测定-A 对照 (每个样本做一个自身对照)。				

【注】1. 若 ΔA 在零附近徘徊, 可以延长反应时间 T (如 37°C 孵育 10min 延长至 20min) 或增加样本量 V1 (如增至 150μL, 则试剂二相应减少), 则改变后的反应时间 T 和样本量 V1 需代入计算公式重新计算。

2. 若 A 测定值大于 2, 可以减少样本量 V1 (如减至 50μL, 用提取液相应补充), 则改变后的样本量 V1 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算:

1、按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 37°C 每毫克蛋白每分钟催化血红蛋白水解生成 1μg 酪氨酸为 1 个酶活单位(U)。

$$\text{胃蛋白酶 (U/mg prot)} = [\Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times C \text{ 标准} \times V2] \div (V1 \times Cpr) \div T$$

$$= 35 \times \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div Cpr$$

2、按样本鲜重计算:

酶活定义: 37°C 每 g 组织每分钟催化血红蛋白水解生成 1μg 酪氨酸为 1 个酶活单位(U)。

$$\text{胃蛋白酶 (U/g 鲜重)} = [\Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times C \text{ 标准} \times V2] \div (W \times V1 \div V) \div T$$

$$= 35 \times \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W$$

3、液体 LAP 活力的计算:

酶活定义: 37°C 每毫升液体每分钟催化血红蛋白水解生成 1μg 酪氨酸为 1 个酶活单位(U)。

$$\text{胃蛋白酶 (U/mL)} = [\Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times C \text{ 标准} \times V2] \div V1 \times 2 \div T$$

$$= 70 \times \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白})$$

V---加入提取液体积, 1 mL;

V1---加入样本体积, 0.1mL;

V2---第③步反应总体积, 0.7mL;

T---反应时间, 10min;

C 标准---50μg/mL;

W---样本质量, g;

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL; 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒;