

胃蛋白酶 (Pepsin) 试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 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：

胃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、慢性十二指肠炎等症状时也会引起胃蛋白酶分泌的减少。

测定原理：

胃蛋白酶可催化血红蛋白水解，水解产物与福林试剂反应后显蓝色；一定范围内，其颜色的深浅与胃蛋白酶活性呈正比。

组成：

产品名称	PI009-50T/24S	Storage
试剂一：液体	50ml	4°C
试剂二：液体	50ml	4°C
试剂三：粉剂	1 瓶	4°C避光
试剂四：粉剂	1 瓶	4°C
试剂五：粉剂	1 瓶	4°C
试剂六：液体	5ml	4°C
标准品：液体	1.26ml	4°C
说明书	一份	

试剂三：粉剂×1 瓶，4°C避光保存。临用前加入 25 ml 试剂二充分溶解。

试剂四：粉剂×1 瓶，4°C保存。临用前加入 25 ml 蒸馏水充分溶解。

试剂五：粉剂×1 瓶，4°C保存。临用前加入 30 ml 蒸馏水充分溶解。

标准品：液体 1.26ml×1 支，0.5 μ mol/ml 酪氨酸标准溶液浓度 4°C保存。

自备仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1ml 玻璃比色皿、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℃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 580 nm, 蒸馏水调零。
 2. 试剂三和试剂四置于 37℃水浴预热 30min。
 3. **标准管**: 取玻璃比色皿, 加入 **100μL 标准品**, 200μL 试剂二, 600μL 试剂五, 100μL 试剂六, 混匀后室温静置 20min, 于 580 nm 测光吸收, 记为 A 标准管。
 4. **空白管**: 取玻璃比色皿, 加入 **100μL 蒸馏水**, 200μL 试剂二, 600μL 试剂五, 100μL 试剂六, 混匀后室温静置 20min, 于 580 nm 测光吸收, 记为 A 空白管。
 5. **对照管**: 取 EP 管, 加入 500 μL 蒸馏水, 置于 37℃水浴保温 10min; 加入 500μL 试剂四, 盖紧后摇匀 1min; 加入 **100μL 粗酶液**, 混匀后 8000g 4℃离心 10 分钟取上清; 在玻璃比色皿中加入上清液 100μL, 再加入 200μL 试剂二, 600μL 试剂五, 100μL 试剂六, 混匀后室温静置 20min, 于 580 nm 测光吸收, 记为 A 对照管。
 6. **测定管**: 取 EP 管, 加入 **100μL 粗酶液**, 500 μL 试剂三, 置于 37℃水浴保温 10min; 加入 500μL 试剂四, 盖紧后摇匀 1min; 8000g 4℃离心 10 分钟取上清; 在玻璃比色皿中加入上清液 100μL, 再加入 200μL 试剂二, 600μL 试剂五, 100μL 试剂六, 混匀后室温静置 20min, 于 580 nm 测光吸收, 记为 A 测定管。
- 注意: 空白管和标准管只需要测定一次。**

计算公式:

(1) 按照蛋白浓度计算

活性单位定义: 37℃每毫克蛋白每分钟催化血红蛋白水解生成 1nmol 酪氨酸为 1 个酶活单位。

胃蛋白酶活性 (nmol/min/mg prot) = C 标准品 × (A 测定管 - A 对照管) ÷ (A 标准管 - A 空白管) × 稀释倍数 ÷ (Cpr × V1) ÷ T = 5500 × (A 测定管 - A 对照管) ÷ (A 标准管 - A 空白管) ÷ Cpr

C 标准品: 标准品浓度, 0.5 μ mol/ml 酪氨酸; 稀释倍数: (100+500+500) ÷ 100 = 11; 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), 100μl = 0.1 ml; T: 催化反应时间 (min), 10min。

(2) 按照样本质量计算

活性单位定义: 37℃每克组织每分钟催化血红蛋白水解生成 1nmol 酪氨酸为 1 个酶活单位。

胃蛋白酶活性 (nmol/min/g 鲜重) = C 标准品 × (A 测定管 - A 对照管) ÷ (A 标准管 - A 空白管) × 稀释倍数 ÷ (W × V1 ÷ V2) ÷ T = 5500 × (A 测定管 - A 对照管) ÷ (A 标准管 - A 空白管) ÷ W

C 标准品: 标准品浓度, 0.5 μ mol/ml 酪氨酸; 稀释倍数: (100+500+500) ÷ 100 = 11; W: 组织质量 (g); V1: 加入反应体系中粗酶液体积 (ml), 100μl = 0.1 ml; V2: 粗酶液总体积 (ml), 1ml; T: 催化反应时间 (min), 10min。

注意事项:

试剂三、试剂四、试剂五临用前配制, 配制好用不完的试剂 4℃可保存一周。

