

胃蛋白酶 (Pepsin) 试剂盒说明书

微量法 100T/48S

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	PI010-100T/48S	Storage
试剂一: 液体	100ml	4°C
试剂二: 液体	20ml	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	3.3ml	4°C
标准品: 液体	1.27ml	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 10ml 试剂二充分溶解。

试剂四: 粉剂×1 瓶, 4°C保存。临用前加入 10ml 蒸馏水充分溶解。

试剂五: 粉剂×1 瓶, 4°C保存。临用前加入 15ml 蒸馏水充分溶解。

标准品: 液体 1.27ml×1 支, 0.5μmol/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/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

粗酶液提取:

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线: 0518-81263339

官网:<http://www.bio149.com>

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°C离心 10min, 取上清, 即粗酶液。

测定步骤:

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 580nm, 蒸馏水调零。
2. 试剂三和试剂四置于 37°C水浴预热 30min。
3. **标准管**: 取微量玻璃比色皿/96 孔板, 加入 20μl 标准品, 40μl 试剂二, 120μl 试剂五, 20μl 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**: 取微量玻璃比色皿/96 孔板, 加入 20μl 蒸馏水, 40μl 试剂二, 120μl 试剂五, 20μl 试剂六, 混匀后室温静置 20min, 于 580 nm 测光吸收, 记为 A 标准空白管。
5. **对照管**: 取 EP 管, 加入 100 μl 蒸馏水, 置于 37°C水浴保温 10min; 加入 100μl 试剂四, 盖紧后摇匀 1min; 加入 20μl 粗酶液, 混匀后 8000g 4°C离心 10 分钟取上清; 在微量玻璃比色皿/96 孔板加入上清液 20μl, 再加入 40μl 试剂二, 120μl 试剂五, 20μl 试剂六, 混匀后室温静置 20min, 于 580 nm 测光吸收, 记为 A 空白管。
6. **测定管**: 取 EP 管, 加入 20μl 粗酶液, 100μl 试剂三, 置于 37°C水浴保温 10min; 加入 100μl 试剂四, 盖紧后摇匀 1min; 8000g 4°C离心 10 分钟取上清; 在微量玻璃比色皿/96 孔板加入上清液 20μl, 再加入 40μl 试剂二, 120μl 试剂五, 20μl 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:

a.使用微量玻璃比色皿测定的计算公式如下

(1) 按蛋白浓度计算

活性单位定义: 37°C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。

$$\begin{aligned} \text{胃蛋白酶活性 (nmol/min/mg prot)} &= C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times \text{稀释} \\ &\quad \text{倍数} \div (Cpr \times V1) \div T \\ &= 27500 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div Cpr \end{aligned}$$

(2) 按样本质量计算

活性单位定义: 37°C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。

$$\begin{aligned} \text{胃蛋白酶活性 (nmol/min/g 鲜重)} &= C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times \text{稀释} \\ &\quad \text{倍数} \div (W \times V1 \div V2) \div T \\ &= 27500 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W \end{aligned}$$

C 标准品: 标准品浓度, 0.5 μmol/ml 酪氨酸; 稀释倍数: $(20+100+100) \div 20=11$; 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), $20\mu\text{l}=2 \times 10^{-2}\text{ml}$; W: 组织质量 (g); V2: 粗酶液总体积 (ml), 1ml; T: 催化反应时间 (min), 10min。

b.使用 96 孔板测定的计算公式如下

(1) 按蛋白浓度计算

活性单位定义: 37°C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。

$$\begin{aligned} \text{胃蛋白酶活性 (nmol/min/mg prot)} &= C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times \text{稀释} \\ &\quad \text{倍数} \div (Cpr \times V1) \div T \\ &= 27500 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div Cpr \end{aligned}$$

(2) 按样本质量计算

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



活性单位定义：37°C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。

$$\begin{aligned} \text{胃蛋白酶活性 (nmol/min/g 鲜重)} &= C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times \text{稀释} \\ &\quad \text{倍数} \div (W \times V1 \div V2) \div T \\ &= 27500 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W \end{aligned}$$

C 标准品：标准品浓度，0.5 $\mu\text{mol/ml}$ 酪氨酸；稀释倍数： $(20+100+100) \div 20=11$ ；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)， $20\mu\text{l}=2 \times 10^{-2}\text{ml}$ ；W：组织质量 (g)；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°C可保存一周。

