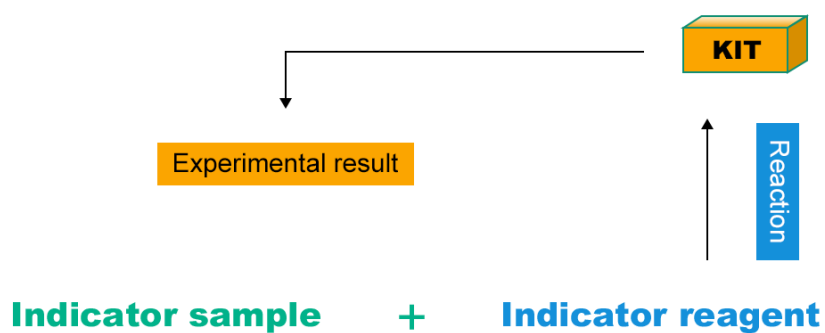


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0404

Size: 100T/48S

胃蛋白酶检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、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、慢性十二指肠炎症等状况时也会引起胃蛋白酶分泌的减少。

二、测定原理：

胃蛋白酶可催化血红蛋白水解，水解产物酪氨酸在 275nm 下有特征吸收峰。通过测定吸光值的变化来计算酶活。

三、需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板（ZC-1036: UV 板）、研钵、冰和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂×1 瓶	4℃避光保存	临用前加入 10 mL 试剂二充分溶解。
试剂二	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前加入 10mL 蒸馏水充分溶解

五、操作步骤：

● 粗酶液提取：

称取约0.1g 组织加入1mL 提取液或者0.1mL 胃液加入0.9mL 提取液，进行冰浴匀浆。10000rpm 4℃离心 10 分钟，取上清，即粗酶液，置冰上待测。

● 测定步骤：

1. 紫外分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长到 275nm，蒸馏水调零。

2. 按下表操作：

	测定管	对照管
样本 (μL)	20	-
试剂一 (μL)	100	100
混匀，37℃保温 10min。		
试剂三 (μL)	100	100
摇匀 1min。		
样本 (μL)	-	20
混匀后 10000rpm 4℃离心 10min，取上清用微量石英比色皿/96 孔UV 板测定 A_{275nm} 。计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$		

注意：对照管后加粗酶液，而测定管先加粗酶液

六、胃蛋白酶活性计算：

1、用石英比色皿

(1) 按样本蛋白浓度计算：

活性单位 (U) 定义：37℃下每毫克蛋白每分钟催化血红蛋白水解生成 $1 \mu\text{mol}$ 酪氨酸为一个酶活单位。

胃蛋白酶 (U/mg prot) = $(\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}}) \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 0.786 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

(2) 按样本鲜重计算：

活性单位 (U) 定义：37°C下每克组织每分钟催化血红蛋白水解生成 1 μmol 酪氨酸为一个酶活单位。

$$\text{胃蛋白酶 (U/g 鲜重)} = (\Delta A \div \varepsilon \div d \times V_{\text{反总}}) \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提}}) \div T = 0.786 \times \Delta A \div W。$$

(3) 按液体体积计算：

活性单位 (U) 定义：37°C下每毫升液体每分钟催化血红蛋白水解生成 1 μmol 酪氨酸为一个酶活单位。

$$\text{胃蛋白酶 (U/mL)} = (\Delta A \div \varepsilon \div d \times V_{\text{反总}}) \div (V_{\text{样本}} \div V_{\text{提}} \times V_{\text{液}}) \div T = 0.786 \times \Delta A$$

C_{pr}: 粗酶液蛋白质浓度 (mg/mL) 需要另外测定；V_{反总}: 反应总体积, 0.22mL；V_提: 粗酶液总体积, 1mL；T: 催化反应时间, 10min；V_{样本}: 加入样本体积, 0.02mL；V_液: 液体体积, 0.1mL； ε : 酪氨酸吸光系数, $1.4 \mu\text{mol}^{-1} \cdot \text{mL} \cdot \text{cm}^{-1}$ ；d: 光程, 1cm。

2、用 96 孔 UV 板

(1) 按样本蛋白浓度计算：

活性单位 (U) 定义：37°C下每毫克蛋白每分钟催化血红蛋白水解生成 1 μmol 酪氨酸为一个酶活单位。

$$\text{胃蛋白酶 (U/mg prot)} = (\Delta A \div \varepsilon \div d \times V_{\text{反总}}) \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 1.31 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本鲜重计算：

活性单位 (U) 定义：37°C下每克组织每分钟催化血红蛋白水解生成 1 μmol 酪氨酸为一个酶活单位。

$$\text{胃蛋白酶 (U/g 鲜重)} = (\Delta A \div \varepsilon \div d \times V_{\text{反总}}) \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提}}) \div T = 1.31 \times \Delta A \div W$$

(3) 按液体体积计算：

活性单位 (U) 定义：37°C下每毫升液体每分钟催化血红蛋白水解生成 1 μmol 酪氨酸为一个酶活单位。

$$\text{胃蛋白酶 (U/mL)} = (\Delta A \div \varepsilon \div d \times V_{\text{反总}}) \div (V_{\text{样本}} \div V_{\text{提}} \times V_{\text{液}}) \div T = 1.31 \times \Delta A$$

Cpr: 粗酶液蛋白质浓度 (mg/mL) 需要另外测定; V 反总: 反应总体积, 0.22mL; V 提: V 提: 粗酶液总体积, 1mL; T: 催化反应时间, 10min; V 样本: 加入样本体积, 0.02mL; V 液: 液体体积, 0.1mL; ε : 酪氨酸吸光系数, $1.4 \mu\text{mol}^{-1} \cdot \text{mL} \cdot \text{cm}^{-1}$; d: 光程, 0.6cm。