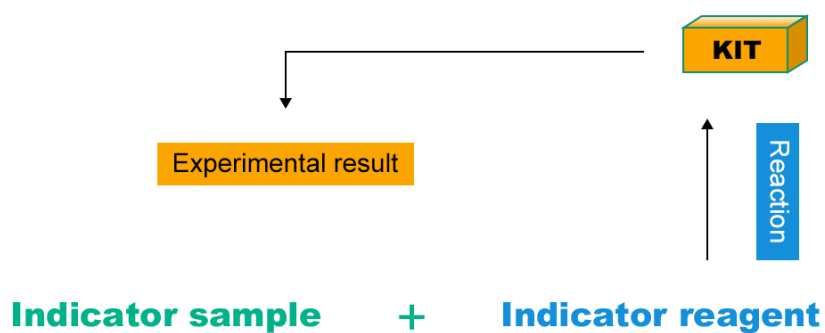


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0680

Size: 50T/24S

胃蛋白酶检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

*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、慢性十二指肠炎等症状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-可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 石英比色皿、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 25 mL 试剂二充分溶解
试剂二	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前加入 25 mL 蒸馏水充分溶解

五、操作步骤：

1. 粗酶液提取：

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

2. 测定步骤：

(1) 分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 275 nm，蒸馏水调零。

(2) 按下表操作：

	测定管	对照管
样本 (μL)	100	-
试剂一 (μL)	500	500
混匀，37℃保温 10min。		
试剂三 (μL)	500	500
摇匀 1min。		
样本 (μL)	-	100
混匀后 10000rpm 4℃离心 10min，取上清用 1mL 石英比色皿，测定 A _{275nm} ，记为 A 测定和 A 对照，计算 ΔA=A 测定-A 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. 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 μmol 酪氨酸为一个酶活单位。

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

2. 按样本鲜重计算：

活性单位 (U) 定义：37℃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℃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。

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

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，1.1mL；V_提：提取液体积，1mL；T：催化反应时间，10min；V_{样本}：加入样本体积，0.1mL；ε：酪氨酸吸光系数，1.4 mL / μmol/cm；d：光程，1cm。