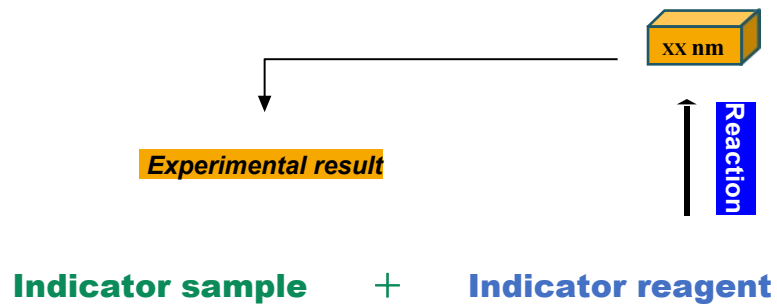


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

胃蛋白酶活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

产品内容

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

产品说明：

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。

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。

自备仪器和用品：

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 UV 板、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、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。10000 rpm 4℃离心 10 分钟，取上清，即粗酶液，置冰上待测。

二、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 275 nm，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°C 保温 10min。		
试剂三 (μL)	100	100
摇匀 1min。		
样本 (μL)	-	20
混匀后 10000rpm 4°C 离心 10min，取上清用微量石英比色皿/96 孔 UV 板测定 A_{275nm} 。计算 $\Delta A = A_{测定} - A_{对照}$		

注意：对照管后加粗酶液，而测定管先加粗酶液

三、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°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。

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

(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。

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

(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。

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

C_{pr} ：粗酶液蛋白质浓度 (mg/mL)，需要另外测定； $V_{\text{反总}}$ ：反应总体积，0.22mL； $V_{\text{提}}$ ：粗酶液总体积，1mL； T ：催化反应时间，10min； $V_{\text{样本}}$ ：加入样本体积，0.02mL； $V_{\text{液}}$ ：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。

$$\begin{aligned}\text{胃蛋白酶 (U/mg prot)} &= (\Delta A \div \varepsilon \div d \times V_{\text{反总}}) \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样本}}) \div T \\ &= 1.31 \times \Delta A \div \text{Cpr}\end{aligned}$$

(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。

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

(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。

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

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。