

## 胃蛋白酶活性检测试剂盒

### Pepsin Assay Kit

可见分光光度法

货号：AK194

规格：50T/24S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK194-A	50mL×1 瓶	4℃保存；
AK194-B	50mL×1 瓶	4℃保存；
AK194-C	粉剂×1 瓶	4℃避光保存。临用前加入 25mL 试剂二充分溶解。
AK194-D	粉剂×1 瓶	4℃保存。临用前加入 25mL 蒸馏水充分溶解。
AK194-E	粉剂×1 瓶	4℃保存。临用前加入 30mL 蒸馏水充分溶解。
AK194-F	5mL×1 瓶	4℃保存；
AK194-酪氨酸标准 (0.5μmol/mL)	1.5mL×1 瓶	4℃保存；

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：胃蛋白酶（Pepsin）是一种消化性蛋白酶，由胃部中的胃粘膜主细胞（gastric chief cell）所分泌，将食物中蛋白质分解成小肽段，该酶的最适 pH 为 2 左右。胃蛋白酶测定可用于鉴别神经性低酸症和胃性低酸症。当胃酸过少或缺乏时，前者胃蛋白酶的含量有时正常而后者盐酸与胃蛋白酶同时缺乏。

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。

自备用品：

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）：AK194-A 体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL AK194-A）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. AK194-C 和 AK194-D 置于 37℃水浴预热 30min。
3. 在 EP 管中依次加入下列试剂

试剂名称	标准管 (ul)	空白管 (ul)	对照管 (ul)	测定管 (ul)
AK194-C			500	500
粗酶液				100
置于 37℃水浴保温 10min；				
AK194-D			500	500
盖紧后摇匀 1min；				
粗酶液			100	
混匀后 8000g 4℃离心 10 分钟；取上清液 100μL，加入新 EP 管，				
标准品	100			

蒸馏水		100		
对照管上清液			100	
测定管上清液				100
AK194-B	200	200	200	200
AK194-E	600	600	600	600
AK194-F	100	100	100	100
混匀后室温静置 20min，取 200 $\mu$ L 于微量玻璃比色皿/96 孔板，580 nm 测光吸收，记为： A 标准管、A 标准空白管、A 对照管、A 测定管。				

**注意：空白管和标准管只需要测定一次。**

#### 胃蛋白酶活力计算：

##### 1. 按照蛋白浓度计算

活性单位定义：37 $^{\circ}$ 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。

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

此法需要自行测定样本蛋白质浓度。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit (C05-02001)

**注：** C 标准品：标准品浓度，0.5  $\mu$  mol/mL 酪氨酸；稀释倍数：(100+500+500) $\div$ 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)，100 $\mu$ L=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 $^{\circ}$ 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。

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

**注：** C 标准品：标准品浓度，0.5  $\mu$  mol/mL 酪氨酸；稀释倍数：(100+500+500) $\div$ 100=11；W：组织质量 (g)；V1：加入反应体系中粗酶液体积 (mL)，100 $\mu$ L= 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

- AK194-C、AK194-D、AK194-E 临用前配制，配制好用不完的试剂 4 $^{\circ}$ C 可保存一周。