

胃蛋白酶活性检测试剂盒

Pepsin Assay Kit

微量法

货号: AK195

规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK195-提取液	50mL×1 瓶	4℃保存;
AK195-A	粉剂×1 瓶	4℃保存; 临用前加入 10 mL AK195-B, 充分溶解;
AK195-B	15mL×1 瓶	4℃保存;
AK195-C	粉剂×1 瓶	4℃保存; 临用前加入 10 mL 蒸馏水, 充分溶解。

※ 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。

自备用品:

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

样本处理:

组织样品: 按照组织质量 (g): AK195-提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL AK195-A) 冰浴匀浆, 10000rpm 4℃离心 10min, 取上清, 即粗酶液; 或 0.1mL 胃液加入 0.9mL AK195-提取液, 10000rpm 4℃离心 10 min, 取上清, 置冰上待测。

测定步骤:

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min, 调节波长到 275 nm, 蒸馏水调零;
2. 按下表依次加入下列试剂:

试剂名称	对照管 (ul)	测定管 (ul)
样本		20
AK195-A	100	100
混匀, 37℃保温 10min		
AK195-C	100	100
摇匀 1min		
样本	20	
混匀后 10000rpm 4℃离心 10min, 取上清测定 275nm 处吸光值。计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。		

胃蛋白酶活力计算:

a. 用微量石英比色皿检测:

1. 按样本蛋白浓度计算:

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

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

2. 按样本质量计算:

活性单位定义: 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。

$$\text{胃蛋白酶酶活 (U/g 质量)} = (\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}}) \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提}}) \div T = 0.786 \times \Delta A \div W$$

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。

$$\text{胃蛋白酶酶活 (U/mL)} = (\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}}) \div (V_{\text{样本}} \div V_{\text{提}} \times V_{\text{液}}) \div T = 7.86 \times \Delta A$$

C_{pr} : 样本蛋白质浓度 (mg/mL), 需要另外测定; W : 样本质量, g; $V_{\text{反总}}$: 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。

b. 用 96 孔 (UV 板) 检测:

1. 按样本蛋白浓度计算:

活性单位定义: 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。

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

2. 按样本质量计算

活性单位定义: 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。

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

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。

$$\text{胃蛋白酶酶活 (U/mL)} = (\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}}) \div (V_{\text{样本}} \div V_{\text{提}} \times V_{\text{液}}) \div T = 13.1 \times \Delta A$$

C_{pr} : 粗酶液蛋白质浓度 (mg/mL), 需要另外测定; W : 样本质量, g; $V_{\text{反总}}$: 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, 0.6cm。