

胃蛋白酶（Pepsin）试剂盒说明书

(微板法 48 样)

一、产品简介：

胃蛋白酶（Pepsin）是一种消化性蛋白酶，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。

胃蛋白酶可催化血红蛋白水解生成含酚的氨基酸，含酚的氨基酸与福林酚反应后显蓝色；其颜色的深浅与胃蛋白酶活性呈正比。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体 50mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂一	液体 5mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂二	粉体 mg×2 瓶	4℃ 保存	临用前甩几下使粉体落入底部，每瓶再加 13mL 蒸馏水溶解备用。
试剂三	液体 15mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂四	液体 3mL×1 瓶	4℃ 保存	
标准品	粉体 mg×1 支	4℃ 保存	临用前加 2mL 提取液，再用蒸馏水稀释 10 倍，即为 0.05mg/mL 酪氨酸。

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、台式离心机、可调式移液器、天平、研钵、冰和蒸馏水。

四、胃蛋白酶活性测定：

1、样本制备：

① 组织样本：

取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。4℃×3500rpm 离心 5min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例

进行提取

② 液体样本：液体用提取液按照 1:1 的比例混合稀释后，4℃×3500rpm，离心 5min，取上清液检测。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 680nm。

② 所有试剂解冻至室温。

③ 在 EP 管中依次加入：

试剂名称（ μL ）	测定管	对照管
样本	50	50
试剂一		50

37°C 孵育 5min		
试剂二	250	250
37°C 孵育 10min		
试剂一	50	
37°C 孵育 5min 后, 3000rpm 离心 5min, 上清液待测。		

④ 显色反应, 在 EP 管中:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
上清液	30	30		
标准品			30	
提取液				30
试剂三	150	150	150	150
试剂四	30	30	30	30
37°C 孵育 20min 后 (若浑浊则室温 3000rpm 离心 5min), 取 200μL 至 96 孔板中, 于 680nm 处测定, 读取吸光值 A。ΔA=A 测定-A 对照 (每个样本做一个自身对照)。				

【注】1. 若ΔA 在零附近徘徊, 可以延长反应时间 T (如 37°C 孵育 10min 延长至 20min) 或增加样本量 V1 (如增至 100μL, 则试剂二相应减少), 则改变后的反应时间 T 和样本量 V1 需代入计算公式重新计算。

2. 若 A 测定值大于 1.5, 可以减少样本量 V1 (如减至 20μL, 用提取液相应补充), 则改变后的样本量 V1 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算:

1、按样本蛋白浓度计算:

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

$$\begin{aligned} \text{胃蛋白酶 (U/mg prot)} &= [\Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times C \text{ 标准} \times V2] \div (V1 \times Cpr) \div T \\ &= 35 \times \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div Cpr \end{aligned}$$

2、按样本鲜重计算:

酶活定义: 37°C 每 g 组织每分钟催化血红蛋白水解生成 1μg 酪氨酸为 1 个酶活单位(U)。

$$\begin{aligned} \text{胃蛋白酶 (U/g 鲜重)} &= [\Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times C \text{ 标准} \times V2] \div (W \times V1 \div V) \div T \\ &= 35 \times \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W \end{aligned}$$

3、液体 LAP 活力的计算:

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

$$\begin{aligned} \text{胃蛋白酶 (U/mL)} &= [\Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times C \text{ 标准} \times V2] \div V1 \times 2 \div T \\ &= 70 \times \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \end{aligned}$$

V---加入提取液体积, 1 mL;

V1---加入样本体积, 0.05mL;

V2---第③步反应总体积, 0.35mL;

T---反应时间, 10min;

C 标准---50μg/mL;

W---样本质量, g;

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL; 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒