

胃蛋白酶检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1135

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/24S 96T/48S

适用样本：动物组织、胃液

产品简介

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。本试剂盒提供了一种简单、快速的胃蛋白酶检测方法，其检测原理是：胃蛋白酶可催化底物水解，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。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	10mL	20mL	4℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	4℃避光保存
试剂三	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	4℃保存
试剂四	5mL	10mL	4℃保存
试剂五	1mL	2mL	4℃保存
标准品	1mL	1mL	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 760nm 处的吸光度）

恒温箱、制冰机、低温离心机

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水

匀浆器

试剂准备

提取液：即用型；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：临用前每瓶加入 5mL 试剂一，充分溶解。未用完的试剂可 4℃保存一周或分装-20℃长期保存，避免反复冻融。

试剂三：临用前每瓶加入 5mL 去离子水，充分溶解。未用完的试剂 4℃保存。

试剂四：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂五：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

标准品：0.5 μmol/mL 酪氨酸标准溶液，即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

样本制备

称取约 0.1g 组织加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆或者取 0.1mL 胃液加入 1mL 提取液。8000g 4℃离心 10 分钟，取上清，置冰上待测。（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

产品说明书

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存1个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用BCA法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热30min以上，调节波长到760nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 试剂二和试剂三置于37℃恒温箱预热30min。
3. 酶促反应（在EP管中加入下列试剂）：

试剂	对照管（μL）	测定管（μL）
样本	0	20
去离子水	100	0
试剂二	0	100

置于37℃孵育30min

试剂三	100	100
-----	-----	-----

盖紧后摇匀1min

样本	20	0
----	----	---

混匀，8,000g，4℃离心10min，取上清液

4. 显色（在96孔板或微量玻璃比色皿加入下列试剂）

	空白孔（μL）	标准孔（μL）	测定孔（μL）	对照孔（μL）
上清液	0	0	100	100
标准品	0	100	0	0
去离子水	100	0	0	0
试剂一	20	20	20	20
试剂四	60	60	60	60
试剂五	20	20	20	20

混匀后室温静置20min，于760nm波长处测定各孔的吸光值A。计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 、 $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。（空白管和标准管只需要测定一次）

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于0.005可适当加大提取样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于1.0，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

结果计算

1. 按照蛋白浓度计算

活性单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟催化血红蛋白水解生成1nmol酪氨酸为1个酶活单位。

$$\text{胃蛋白酶 (U/mg prot)} = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反总}} \times \text{稀释倍数} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T \times n$$
$$= 220 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div C_{\text{pr}} \times n$$

2. 按样本质量计算

活性单位定义：每g组织在反应体系中每分钟催化血红蛋白水解生成1nmol酪氨酸为1个酶活单位。

$$\text{胃蛋白酶活性 (U/g)} = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反总}} \times \text{稀释倍数} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times n$$
$$= 220 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div W \times n$$

3. 按样本体积计算

活性单位定义：每mL液体样本在反应体系中每分钟催化血红蛋白水解生成1nmol酪氨酸为1个酶活单位。

$$\text{胃蛋白酶活性 (U/mL)} = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反总}} \times \text{稀释倍数} \div (V_{\text{液}} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times n$$
$$= 220 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div V_{\text{液}} \times n$$

产品说明书

$C_{\text{标}}$: 标准品浓度, $0.5 \mu\text{mol/mL}=500\text{nmol/mL}$; $V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 0.12mL ; 稀释倍数: $(20+100+100) \div 100=2.2$; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL , 需自行测定; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中样本体积, mL , $20 \mu\text{L}=0.02\text{mL}$; T : 催化反应时间, 30min ; W : 组织质量, g ; $V_{\text{液}}$: 液体样本体积, 0.1mL ; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL ; n : 样本进一步稀释的稀释倍数。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

相关产品:

PMK1134 胰蛋白酶检测试剂盒 (微量法)
PMK1131 酸性蛋白酶检测试剂盒 (微量法)
PMK1132 中性蛋白酶检测试剂盒 (微量法)
PMK1133 碱性蛋白酶检测试剂盒 (微量法)



更多产品详情了解, 请关注公众号: