

胃蛋白酶活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHG6-M48	胃蛋白酶活性测定试剂盒	48T	微量法
AMHG6-M96		96T	

一、测定意义：

通过标准化检测胃蛋白酶分解底物的能力，评估胃黏膜功能，辅助诊断萎缩性胃炎、消化性溃疡等疾病，并与胃蛋白酶原联用提高准确性；试剂盒法操作简便、灵敏度高，适用于临床筛查、药物评价及科研，需注意样本处理（如胃液速冻）和药物干扰（如抑酸剂）。

二、测定原理：

酸性条件下，胃蛋白酶催化酪蛋白水解产生酪氨酸；在碱性条件下，酪氨酸还原磷钼酸化合物生成钨蓝；钨蓝在 680nm 有特征吸收峰，通过测定其吸光度增加，来计算 ACPr 活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体60 mL×1 瓶	液体110 mL×1瓶	2~8℃保存
试剂一	液体8mL×1瓶	液体15mL×1瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1瓶	粉剂×2瓶	2-8℃保存
试剂二的配制：每瓶粉剂加入5mL试剂一，沸水浴搅拌充分溶解后待用。			
试剂三	液体5mL×1瓶	液体10mL×1瓶	2-8℃保存
试剂四	液体18mL×1瓶	液体35mL×1瓶	2-8℃保存
试剂五	液体5mL×1瓶	液体10mL×1瓶	2-8℃保存
标准品 (10μmol/mL)	1.5mL×1支	1.5mL×1支	2-8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量（g）:提取液(mL)为 1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞：按照细胞数量 10^4 个：提取液体积（mL）500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

3、血清（浆）等液体：直接测定，若有浑浊请离心后取上清待测。

测定步骤

- 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 680nm，蒸馏水调零；
- 将 10μmol/mL 标准液用蒸馏水稀释至 0.5、0.2、0.1、0.05、0.02μmol/mL 备用；
- 操作表 1（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	对照管
样本（μL）	20	20
试剂一（μL）	20	20
试剂二（μL）	40	-
混匀，37℃孵育10min		
试剂三（μL）	40	40
试剂二（μL）	-	40
混匀，10000转/min常温离心10min，取上清液备用。		

- 操作表 2（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
上清液（μL）	40	40	-	-
不同浓度标准液（μL）	-	-	40	-
蒸馏水（μL）	-	-	-	40
试剂四（μL）	150	150	150	150
试剂五（μL）	40	40	40	40
混匀后37℃保温20min，10000rpm室温离心10min，取200μL上清液在96孔板中在波长680nm测定各管吸光度值。分别记为 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{空白}}$ 。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。每个测定管需设一个对照，标准和空白只需要测一次。				

五、胃蛋白酶活性计算：

- 标准曲线绘制：以吸光度值 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线 $y = kx + b$ ，x 为吸光度值，y 为标准品浓度

($\mu\text{mol/mL}$)。根据标准曲线, 将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式计算出样本浓度(y, $\mu\text{mol/mL}$) ;

2、血清等液体样本胃蛋白酶活性计算

单位定义: 37℃ 每 mL 样品在反应体系中每分钟催化水解 1 μmol 酪素为 1 个酶活单位。

计算公式: 胃蛋白酶 (U/mL) = $y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T = y \times 0.1$

3、组织、细胞样本植酸酶活性计算

(1)按样本蛋白浓度计算

单位定义: 37℃ 每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化水解 1 μmol 酪素为 1 个酶活单位。

计算公式: 胃蛋白酶 (U/mg prot) = $y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T$
 $= y \div \text{Cpr} \times 0.1$

(2)按样本鲜重计算

单位定义: 37℃ 每 g 组织在反应体系每分钟催化水解 1 μmol 酪素为 1 个酶活单位。

计算公式: 胃蛋白酶 (U/g) = $y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$
 $= y \div W \times 0.1$

(3)按照细菌或细胞数量计算

单位定义: 37℃ 每 1 万个细菌或细胞在反应体系中每分钟催化水解 1 μmol 酪素为 1 个酶活单位。

计算公式: 胃蛋白酶 (U/ 10^4 cell) = $y \times V_{\text{样}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$
 $= y \times 0.0002$

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.04mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL; T:

反应时间, 10min; W: 样本质量, g; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;

500: 细菌或真菌细胞总数, 500 万。

六、注意事项:

1、比色时, 溶液呈现蓝色, 在 1h 内保持稳定;

2、不同样本的胃蛋白酶差异较大, 先做预实验确认样本稀释倍数。

如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 A 测大于 0.3, 样本可用去离子水进一步稀释, 计算结果乘以稀释倍数;

3、不同仪器测定出来的吸光度值存在差异, 实验时需同时测定标准曲线。

【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日