



胃蛋白酶 (Pepsin) 试剂盒说明书

微量法

100T/48S

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

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。

测定原理：

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。

组成：

产品名称	100T/48S	Storage
试剂一：液体	100ml	4℃
试剂二：液体	20ml	4℃
试剂三：粉剂	1 瓶	4℃避光
试剂四：粉剂	1 瓶	4℃
试剂五：粉剂	1 瓶	4℃
试剂六：液体	3.3ml	4℃
标准品：液体	1.27ml	4℃
说明书	一份	

试剂三：粉剂×1 瓶，4℃避光保存。临用前加入 10ml 试剂二充分溶解。

试剂四：粉剂×1 瓶，4℃保存。临用前加入 10ml 蒸馏水充分溶解。

试剂五：粉剂×1 瓶，4℃保存。临用前加入 15ml 蒸馏水充分溶解。

标准品：液体 1.27ml×1 支，0.5μmol/ml 酪氨酸标准溶液浓度 4℃保存。

自备仪器和用品：



可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

粗酶液提取：

组织样品：按照组织质量（g）：试剂一体积(ml)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1ml 试剂一）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 以上，调节波长至 580nm，蒸馏水调零。
2. 试剂三和试剂四置于 37℃水浴预热 30min。
3. **标准管**：取微量玻璃比色皿/96 孔板，加入 20μl 标准品，40μl 试剂二，120μl 试剂五，20μl 试剂六，混匀后室温静置 20min，于 580 nm 测光吸收，记为 A 标准管。
4. **空白管**：取微量玻璃比色皿/96 孔板，加入 20μl 蒸馏水，40μl 试剂二，120μl 试剂五，20μl 试剂六，混匀后室温静置 20min，于 580 nm 测光吸收，记为 A 标准空白管。
5. **对照管**：取 EP 管，加入 100 μl 蒸馏水，置于 37℃水浴保温 10min；加入 100μl 试剂四，盖紧后摇匀 1min；加入 20μl 粗酶液，混匀后 8000g 4℃离心 10 分钟取上清；在微量玻璃比色皿/96 孔板加入上清液 20μl，再加入 40μl 试剂二，120μl 试剂五，20μl 试剂六，混匀后室温静置 20min，于 580 nm 测光吸收，记为 A 空白管。
6. **测定管**：取 EP 管，加入 20μl 粗酶液，100μl 试剂三，置于 37℃水浴保温 10min；加入 100μl 试剂四，盖紧后摇匀 1min；8000g 4℃离心 10 分钟取上清；在微量玻璃比色皿/96 孔板加入上清液 20μl，再加入 40μl 试剂二，120μl 试剂五，20μl 试剂六，混匀后室温静置 20min，于 580 nm 测光吸收，记为 A 测定管。

注意：空白管和标准管只需要测定一次。

计算公式：

(1) 按蛋白浓度计算

活性单位定义：37℃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) = $C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times V1 \times \text{稀释倍数} \div (Cpr \times V1) \div T = 550 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div Cpr$

(2) 按样本质量计算

活性单位定义：37℃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 鲜重) = $C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times V1 \times \text{稀释倍数} \div (W \times V1 \div V2) \div T = 550 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W$

C 标准品：标准品浓度，0.5 μmol/mL 酪氨酸；稀释倍数：(20+100+100) ÷ 20=11；Cpr：粗酶液蛋白质浓度 (mg/mL)，需要另外测定；V1：加入反应体系中上清液体积 (mL)，20μL=2×10⁻² mL；W：组织质量 (g)；V2：粗酶液总体积 (mL)，1mL；T：催化反应时间 (min)，10min。



UpingBio technology Co.,Ltd

Tel: 400-999-8863

Email: UpingBio@163.com

Website: www.upingBio.com



注意事项

试剂三、试剂四、试剂五临用前配制，配制好用不完的试剂 4℃可保存一周。

Thank you for your recent purchase

Focus on your research Service for life science