胃蛋白酶（Pepsin）试剂盒说明书

(货号：BN72592　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	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 2mL 提取液溶解，接着用蒸馏水稀释 100 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：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

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℃孵育 5min		
试剂二	250	250
37℃孵育 10min		
试剂一	50	
37℃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℃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）。				

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：37℃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)。

胃蛋白酶(U/mg prot)=[ΔA÷(A 标准-A 空白)×C 标准×V2]÷(V1×Cpr)÷T

=35×ΔA÷(A 标准-A 空白)÷Cpr

2、按样本鲜重计算：

酶活定义：37℃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)。

胃蛋白酶(U/g 鲜重)=[ΔA÷(A 标准-A 空白)×C 标准×V2]÷(W×V1÷V) ÷T

=35×ΔA÷(A 标准-A 空白）÷W

3、按液体体积计算：

酶活定义：37℃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)。

胃蛋白酶(U/mL)=[ΔA÷(A 标准-A 空白)×C 标准×V2]÷V1×2÷T=70×ΔA÷(A 标准-A 空白)

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。