

胃蛋白酶活性检测试剂盒

Pepsin Assay Kit

微量法

货号: AK195

规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK195-A	100mL×1 瓶	4℃保存;
AK195-B	20mL×1 瓶	4℃保存;
AK195-C	粉剂×1 瓶	4℃避光保存。临用前加入 10mL 试剂 B 充分溶解。
AK195-D	粉剂×1 瓶	4℃保存。临用前加入 10mL 蒸馏水充分溶解。
AK195-E	粉剂×1 瓶	4℃保存。临用前加入 15mL 蒸馏水充分溶解。
AK195-F	3mL×1 瓶	4℃保存;
AK195-标准(1μmol/mL)	1mL×1 支	4℃保存;

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 胃蛋白酶(Pepsin)是一种消化性蛋白酶,由胃部中的胃粘膜主细胞(gastric chief cell)所分泌,将食物中蛋白质分解成小肽段,该酶的最适 pH 为 2 左右。胃蛋白酶测定可用于鉴别神经性低酸症和胃性低酸症。当胃酸过少或缺乏时,前者胃蛋白酶的含量有时正常而后者盐酸与胃蛋白酶同时缺乏。

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。

自备用品:

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

粗酶液提取:

组织样品: 按照组织质量(g): AK195-A 体积(mL)为 1: 5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织,加入 1mL AK195-A)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, 调节波长到 580 nm, 蒸馏水调零。
2. AK195-C 和 AK195-D 置于 37℃水浴预热 30min。
3. 在 EP 管中依次加入下列试剂

试剂名称	标准管 (ul)	空白管 (ul)	对照管 (ul)	测定管 (ul)
AK195-C			100	100
粗酶液				20
置于 37℃水浴保温 10min;				
AK195-D			100	100
盖紧后摇匀 1min;				
粗酶液			20	
混匀后 8000g 4℃离心 10 min; 取上清液 20μL, 加入新 EP 管,				
标准品	20			
蒸馏水		20		

对照管上清液			20	
测定管上清液				20
AK195-B	40	40	40	40
AK195-E	120	120	120	120
AK195-F	20	20	20	20
混匀后室温静置 20min，于微量玻璃比色皿/96 孔板，580 nm 测光吸收，记为：A 标准管、A 空白管、A 对照管、A 测定管。				

注意：空白管和标准管只需要测定 1-2 次。

胃蛋白酶活力计算：

1. 按照蛋白浓度计算

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 (U/mg prot) = C 标准品×(A 测定管-A 对照管)÷(A 标准管-A 空白管)×稀释倍数
÷(Cpr×V1)÷T=55000×(A 测定管-A 对照管)÷(A 标准管-A 空白管)÷Cpr

此法需要自行测定样本蛋白质浓度。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit (C05-02001)

注： C 标准品：标准品浓度，1 μmol/mL=1000nmol/ml；稀释倍数：(100+20+100)÷20=11；Cpr：粗酶液蛋白质浓度(mg/mL)，需要另外测定；V1：加入反应体系中粗酶液体积(mL)，20μL=0.02mL；T：催化反应时间(min)，10min。

2. 按照样本质量计算

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 (U/g) = C 标准品×(A 测定管-A 对照管)÷(A 标准管-A 空白管) ×稀释倍数
÷(W×V1÷V2)÷T=55000×(A 测定管-A 对照管)÷(A 标准管-A 空白管)÷W

注： C 标准品：标准品浓度，1 μmol/mL=1000nmol/ml；稀释倍数：(100+20+100)÷20=11；W：组织质量(g)；V1：加入反应体系中粗酶液体积(mL)，20μL=0.02 mL；V2：粗酶液总体积(mL)，1mL；T：催化反应时间(min)，10min。

注意事项

AK195-C、AK195-D、AK195-E 临用前配制，配制好用不完的试剂 4℃可保存一周。