

## 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/96T

适用样本：动物组织、胃液

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。

### 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×1瓶	4℃避光保存
试剂三	粉剂×1瓶	粉剂×1瓶	4℃保存
试剂四	粉剂×1瓶	粉剂×1瓶	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 580nm 处的吸光度） 680nm/ 760nm?

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 48T 加入 5mL 试剂一，96T 加入 10mL 试剂二，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 48T 加入 5mL 去离子水，96T 加入 10mL 去离子水，充分溶解。未用完的试剂 4℃保存。

试剂四：临用前 48T 加入 7.5mL 去离子水，96T 加入 15mL 去离子水，充分溶解。未用完的试剂 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）

**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。**

## 产品说明书

### 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 580nm，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 10min

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	20	20
标准品	0	20	0	0
去离子水	20	0	0	0
试剂一	40	40	40	40
试剂四	120	120	120	120
试剂五	20	20	20	20

混匀后室温静置 20min，于 580 nm 波长处测定各孔的吸光值 A。计算  $\Delta A_{测} = A_{测定} - A_{对照}$ 、 $\Delta A_{标} = A_{标准} - A_{空白}$ 。（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  $\Delta A_{测}$  小于 0.005 可适当加大提取样本量。如果  $\Delta A_{测}$  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。

胃蛋白酶 (U/mg prot) =  $C_{标} \times (\Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \times V_{反总} \div (C_{pr} \times V_{样}) \div T \times n = 550 \times (\Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \div C_{pr} \times n$

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。

胃蛋白酶活性 (U/g) =  $C_{标} \times (\Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \times V_{反总} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div T \times n = 550 \times (\Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \div W \times n$

$C_{标}$ ：标准品浓度，0.5 μmol/mL=500nmol/mL； $V_{反总}$ ：反应总体积，0.22mL； $C_{pr}$ ：样本蛋白质浓度，mg/mL，需自行测定； $V_{样}$ ：加入反应体系中样本体积，mL，20 μL=0.02mL； $T$ ：催化反应时间，10min； $W$ ：组织质量，g； $V_{样总}$ ：加入提取液体积，1mL； $n$ ：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。

## 产品说明书

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）
- PMK1136 糜蛋白酶检测试剂盒/胰凝乳蛋白酶检测试剂盒（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：