

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

胃蛋白酶活力测定试剂盒 Pepsin Activity Assay Kit

产品货号: BC00089

产品规格: 100T

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们:

✉ 邮箱 (销售) order@enkilife.cn

✉ 邮箱 (技术支持) tech@enkilife.cn

☎ 公司电话 027-87002838

🌐 网址 www.enkilife.cn



订阅微信公众号
获取更多技术
信息及前沿动态

保质期: 请见试剂盒外包装标签。

技术支持: 为了更好地给您提供服务, 联系时请告知产品外包装标签上批号。

基本信息

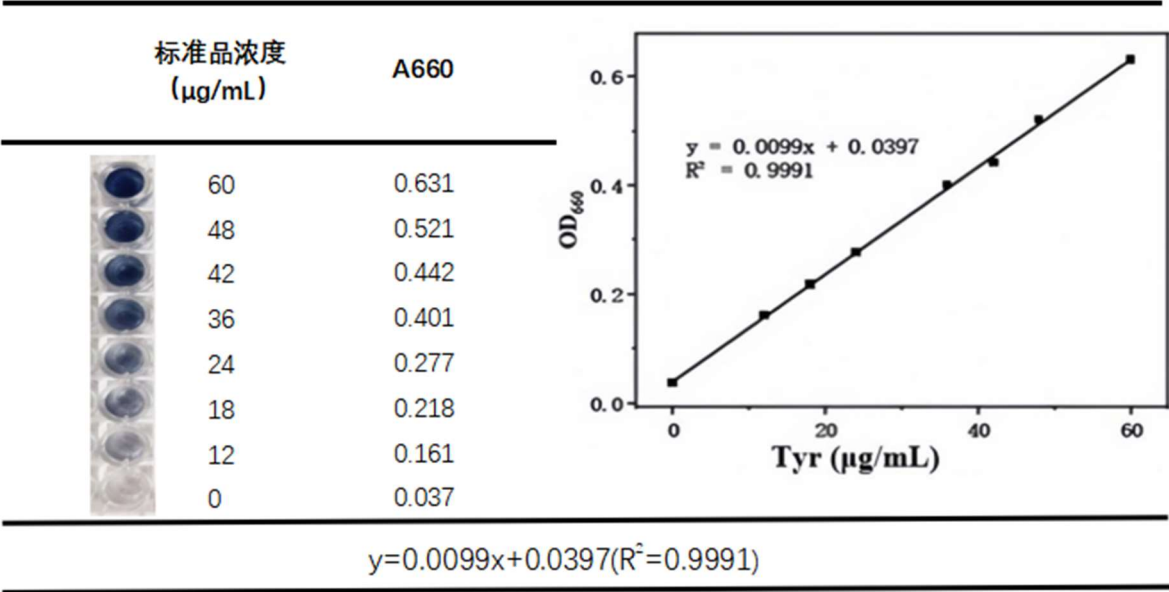
产品中文名称	胃蛋白酶活力测定试剂盒
产品英文名称	Pepsin Activity Assay Kit
检测方法	Colorimetric
样品类型	组织
检测类型	Quantitative
检测仪器及波长	酶标仪（660nm）

产品简介

胃蛋白酶(Pepsin)可催化底物水解，水解产物在碱性条件下与显色剂反应后生成蓝色物质，该蓝色物质在 660 nm 有最大吸收峰，颜色的深浅与胃蛋白酶活性呈正比，可通过 OD 值来计算酶活。

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 EnkiLife 生产的蛋白浓度测定试剂盒(BCA 法)(BC00006)。

下图展示了本试剂盒测定胃蛋白酶活力的标准曲线：



产品组分

编号	产品名称	包装规格 (100T)	保存方式
试剂一	缓冲液	40mL	-20℃, 开瓶后 2-8℃避光保存。
试剂二	沉淀剂	40mL	-20℃, 开瓶后 2-8℃避光保存。
试剂三	显色剂 A	15mL	-20℃, 开瓶后 2-8℃避光保存。
试剂四	显色剂 B	6mL	-20℃, 开瓶后 2-8℃避光保存。
试剂五	底物	粉剂×2	-20℃, 开瓶后 2-8℃避光保存。
试剂六	底物溶剂	12mL	-20℃, 开瓶后 2-8℃避光保存。
试剂七	1mg/mL 标准品溶液	1.5mL	-20℃, 开瓶后 2-8℃避光保存。
耗材一	96 孔酶标板	1 板	RT
耗材二	96 孔覆膜	2 张	RT

保存条件

未拆封的试剂盒可在 -20℃保存 12 个月，开瓶使用后可在 2-8℃避光保存 6 个月。

实验前准备

• 样品处理

按照组织样本质量(g): 生理盐水 (0.9% NaCl) 体积(mL)=1: 4 的比例匀浆, 4℃10000 ×g 离心 10 min, 取上清待测, 留取部分上清进行蛋白浓度测定。

• 试剂盒的准备工作

1. 检测前, 试剂盒中的试剂平衡至室温。
2. 试剂五工作液的配制: 取一瓶试剂五, 加入 5 mL 试剂六, 75℃水浴约 30 min 溶解完全, 2-8℃可保存 1-2 天。
3. 60μg/mL 标准品溶液的配制: 将试剂一: 试剂七按体积比= 47: 3 混匀, 现配现用。
4. 测定工作液配制: 将试剂一: 试剂五工作液按体积比=39: 25 混匀, 现配现用。
5. 不同浓度标准品的稀释:

标准品浓度 (μg/mL)	0	12	18	24	36	42	48	60
60μg/mL 标准品 (μL)	0	40	60	80	120	140	160	200
试剂一 (μL)	200	160	140	120	80	60	40	0

操作流程

酶促反应：

1. 测定管：取 40μL 样本加入到 2 mL EP 管中；对照管：取 40μL 样本加入到 2 mL EP 管中。
2. 向对照管中加入 400μL 试剂二。
3. 向各管加入 200μL 测定工作液，混匀，37℃孵育 10 min。
4. 向步骤（3）后测定管中加入 400μL 试剂二。
5. 混匀各管，37℃孵育 10 min，3500 转/min 离心 10 min，取上清加入到 2 mL 新的 EP 管中，混匀待用。

	测定管（孔）	对照管（孔）
样本(μL)	40	40
试剂二(μL)	--	400
测定工作液(μL)	200	200
混匀，37℃ 孵育 10 min。		
试剂二(μL)	400	--
混匀各管，37℃孵育 10 min，3500 转/min 离心 10 min，取上清液倒入 2mL 新的 EP 管中， 混匀待用。		

显色反应：

1. 标准孔：取 60μL 不同浓度的标准品溶液，分别加入相应的酶标孔中；测定孔、对照孔：

取 60μL 酶促反应上清液加入相应的酶标孔中；

2. 向（1）中各管加入 150μL 试剂三。
3. 向（2）中各管加入 60μL 试剂四。
4. 振板 5 s，37℃ 孵育 10 min，酶标仪 660nm 波长下测定各孔吸光度。

	标准管（孔）	测定管（孔）	对照管（孔）
酶促反应上清液(μL)	--	60	60
不同浓度标准品溶液(μL)	60	--	--
试剂三(μL)	150	150	150
试剂三(μL)	60	60	60
振板 5 s，37℃ 孵育 10 min，酶标仪波长 660 nm 下测定各孔吸光度。			

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

组织样本中胃蛋白酶活力计算公式：

定义：37℃ 条件下，每毫克组织蛋白每分钟催化底物产生 1 μg 的产物所需要的酶量为一个活力单位。

$$\text{胃蛋白酶活力(U/mgprot)} = (\Delta A_{660} - b) \div a \div T \times f \times \frac{V_1}{V_2} \div C_{pr}$$

注解：

y：标准孔 OD 值-空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

ΔA_{660} ：样本的绝对 OD 值 ($\Delta A_{660} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$)

T：反应时间，10 min

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

V_1 : 酶促反应液总体积, 0.64 mL

V_2 : 酶促反应中样本用量, 0.04 mL

C_{pr} : 待测样本的蛋白浓度(mgprot/mL)

注意事项

1. 酶标仪最佳检测波长为 660 nm。
2. 试剂五工作液加热约 10-15min 后, 需用涡旋仪混匀后再进行加热, 方能溶解完全。
3. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。