

CheKine™ 胃蛋白酶活性检测试剂盒（微量法）

货号: KTB2340

规格: 48 T/24 S

96 T/48 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动物组织
	保质期: 4℃避光保存 6 个月

01 背景与原理

胃蛋白酶(pepsin A, EC 3.4.23.1)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。

本试剂盒的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。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	60 mL	120 mL	4℃
Reagent II	10 mL	20 mL	4℃
Reagent III	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃, 避光保存
Reagent IV	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃, 避光保存
Reagent V	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃
Reagent VI	1.66 mL	3.3 mL	4℃, 避光保存
Standard	1.27 mL	1.27 mL	4℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 580 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水	试剂配制用
其他	匀浆器或研钵（组织样本）、恒温水浴锅、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本公司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent II	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Working Reagent III	临用前配制；48 T 加入 6 mL Reagent II，96 T 加入 12 mL Reagent II，充分溶解；使用前 37℃水浴预热 30 min	未用完的试剂 4℃避光保存 1 周
Working Reagent IV	临用前配制；48 T 加入 6 mL 去离子水，96 T 加入 12 mL 去离子水，充分溶解；使用前 37℃水浴预热 30 min	未用完的试剂 4℃避光保存 1 周；Working Reagent IV 有一定的刺激性，建议在使用过程中做好个人防护
Working Reagent V	临用前配制；48 T 加入 7.5 mL 去离子水，96 T 加入 15 mL 去离子水，充分溶解	未用完的试剂 4℃保存 1 周；Working Reagent V 有一定的刺激性，建议在使用过程中做好个人防护
Reagent VI	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存；Reagent VI 有一定的刺激性，建议在使用过程中做好个人防护
Standard	即用型；使用前平衡到室温	500 nmol/mL 标准品溶液；4℃避光保存

05-2 样本制备

注意：建议使用新鲜样本。如果不立即使用，则把完整细胞或者分装的组织块保存在-80℃，一个月内使用。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

- **动物组织**：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Reagent I，冰浴匀浆。8000 g，4℃ 离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 580 nm。
2. **检测体系配制**：空白管和标准管只需做 1-2 次。在 1.5 mL 离心管中按照如下方式操作：

试剂	空白管 (μL)	标准管 (μL)	测定管 (μL)	对照管 (μL)
样本	0	0	20	0
去离子水	0	0	0	100
Working Reagent III	0	0	100	0
置于 37℃ 水浴保温 10 min				
Working Reagent IV	0	0	100	100
盖紧后摇匀 1 min				
样本	0	0	0	20
混匀后 8000 g，4℃ 离心 10 min 取上清，下述操作在 96 孔板中操作：				
上清	0	0	20	20
Standard	0	20	0	0
去离子水	20	0	0	0
Reagent II	40	40	40	40
Working Reagent V	120	120	120	120
Reagent VI	20	20	20	20

3. **吸光度检测**：混匀后室温（25℃）静置 20 min，测定 580 nm 处吸光值，空白孔记为 A_{空白}，标准孔记为 A_{标准}，测定孔记为 A_{测定}，对照孔记为 A_{对照}。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ 、 $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。

2. 样本胃蛋白酶活性计算

- 按样本蛋白浓度计算：

酶活单位定义：37℃ 每毫克蛋白每分钟催化血红蛋白水解生成 1 nmol 酪氨酸定义为一个酶活力单位。

胃蛋白酶 (U/mg prot)= $C_{标准} \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times V_{样} \times F \div (Cpr \times V_{样}) \div T = 550 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div Cpr$

● 按样本质量计算：

酶活单位定义：37℃ 每克组织每分钟催化血红蛋白水解生成 1 nmol 酪氨酸定义为一个酶活力单位。

胃蛋白酶 (U/g)= $C_{标准} \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times V_{样} \times F \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 550 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W$

$C_{标准}$ ：标准溶液的浓度，0.5 μmol/mL=500 nmol/mL；F：稀释倍数，(20+100+100)÷20=11； $V_{样总}$ ：样本总体积，1 mL； $V_{样}$ ：加入的样本体积，0.02 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间，10 min；W：样本质量，g。

07 结果展示

示例-1: 取 0.131 g 小鼠胃，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照} = 0.114 - 0.048 = 0.066$ 、 $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白} = 0.429 - 0.041 = 0.388$ ，按样本质量计算得：胃蛋白酶 (U/g)= $550 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W = 714.173$ U/g。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{测定}$ 过高或者过低怎么办？

如果 $\Delta A_{测定}$ 小于 0.002 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{测定}$ 大于 0.6，可适当减少样本量，再重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB2270	CheKine™ 酸性蛋白酶（ACP）活性检测试剂盒（微量法）
KTB2280	CheKine™ 碱性蛋白酶（AKP）活性检测试剂盒（微量法）
KTB2290	CheKine™ 中性蛋白酶（NP）活性检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 胃蛋白酶活性检测流程示意图

(Abbkinne 货号：KTB2340)

样本处理



称取约0.1 g样本，加入1 mL Reagent I，冰浴匀浆



8000 g，4℃离心10 min，取上清



体系配置



样本 20 μL
Working Reagent III 100 μL

置于37℃水浴保温10 min后加入100 μL Working Reagent IV，盖紧后摇匀1 min，混匀后8000 g，4℃离心10 min取上清



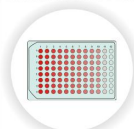
去离子水 100 μL

置于37℃水浴保温10 min后加入100 μL Working Reagent IV，盖紧后摇匀1 min，加入20 μL 样本，混匀后8000 g，4℃离心10 min取上清



Blank Well	Assay Well	Control Well	Standard Well
去离子水 20 μL	20 μL 上清	20 μL 上清	20 μL Standard
Reagent II 40 μL	Reagent II 40 μL	Reagent II 40 μL	Reagent II 40 μL
Working Reagent V 120 μL	Working Reagent V 120 μL	Working Reagent V 120 μL	Working Reagent V 120 μL
Reagent VI 20 μL	Reagent VI 20 μL	Reagent VI 20 μL	Reagent VI 20 μL

数据检测



混匀后室温（25℃）静置20 min，测定580 nm处吸光值
结果计算