

胃蛋白酶活性检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

货号：BC2320

规格：50T/24S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 50 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	粉剂×1 瓶	2-8℃保存

溶液的配制：

- 1、试剂一：临用前加入 25 mL 试剂二，充分溶解；
- 2、试剂三：临用前加入 25 mL 蒸馏水，充分溶解。

产品说明：

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。

胃蛋白酶可催化血红蛋白水解，产物酪氨酸在 275nm 下有特征吸收峰。通过测定吸光值的变化来计算酶活。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 石英比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

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。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

称取约 0.1g 组织加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆或者 0.1mL 胃液加入 0.9mL 提取液。10000 rpm 4℃离心 10 分钟，取上清，置冰上待测。

二、测定步骤

1、分光光度计预热30min以上，调节波长至275nm，蒸馏水调零。

2、操作表：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	100	-
试剂一	500	500
混匀，37℃保温 10min。		
试剂三	500	500
摇匀 1min。		
样本	-	100





混匀后 10000rpm 4℃ 离心 10min, 取上清用 1mL 石英比色皿, 测定 A275nm, 记为 A
测定和 A 对照, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

注意: 对照管后加样本, 而测定管先加样本

三、胃蛋白酶活性计算

1、按样本蛋白浓度计算

活性单位定义: 37℃下每毫克蛋白每分钟催化血红蛋白水解生成 1μmol 酪氨酸为一个酶活单位。

胃蛋白酶酶活 (U/mg prot) = $(\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}}) \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 0.786 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

2、按样本质量计算

活性单位定义: 37℃下每克组织每分钟催化血红蛋白水解生成 1μmol 酪氨酸为一个酶活单位。

胃蛋白酶酶活 (U/g 质量) = $(\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}}) \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提}}) \div T = 0.786 \times \Delta A \div W$

3、按液体体积计算

活性单位定义: 37℃下每毫升液体每分钟催化血红蛋白水解生成 1μmol 酪氨酸为一个酶活单位。

胃蛋白酶酶活 (U/mL) = $(\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}}) \div (V_{\text{样本}} \div V_{\text{提}} \times V_{\text{液}}) \div T = 7.86 \times \Delta A$

Cpr: 样本蛋白质浓度 (mg/mL), 需要另外测定; W: 样本质量, g; V 反总: 反应总体积, 1.1mL; V 提: 提取液体积, 1mL; T: 催化反应时间, 10min; V 样本: 加入样本体积, 0.1mL; ϵ : 酪氨酸吸光系数, 1.4mL/μmol/cm; d: 光径, 1cm; V 液: 液体体积, 0.1mL。

实验实例:

1、取 0.1g 小鼠胃加入 1mL 提取液充分研磨, 10000rpm 4℃离心 10 分钟, 取上清稀释 2 倍, 置冰上, 按照测定步骤操作, 测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 1.234 - 1.199 = 0.035$, 按样本质量计算酶活得:

胃蛋白酶酶活 (U/g 质量) = $0.786 \times \Delta A \div W \times 2$ (稀释倍数) = 0.5502 U/g 质量。

相关发表文献:

[1] Yu Y, Zhang J, Zhu F, Fan M, Zheng J, Cai M, Zheng L, Huang F, Yu Z, Zhang J. Enhanced protein degradation by black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.) and its gut microbes. *Front Microbiol.* 2023 Jan 10; 13:1095025. doi: 10.3389/fmicb.2022.1095025. PMID: 36704554; PMCID: PMC9871565.

[2] Yu C, Qiu J, Xiong M, Ren B, Zhong M, Zhou S, Li Y, Zeng M, Song H. Protective effect of Lizhong Pill on nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastric mucosal injury in rats: Possible involvement of TNF and IL-17 signaling pathways. *J Ethnopharmacol.* 2024 Jan 10;318(Pt B):116991. doi: 10.1016/j.jep.2023.116991. Epub 2023 Aug 1. PMID: 37536648.

[3] Ma J, Zhu Y, Wang Z, Yu X, Hu R, Wang X, Cao G, Zou H, Shah AM, Peng Q, Xue B, Wang L, Zhao S, Kong X. Glutamine supplementation affected the gut bacterial community and fermentation leading to improved nutrient digestibility in growth-retarded yaks. *FEMS Microbiol Ecol.* 2021 Jul 1;97(7):fiab084. doi: 10.1093/femsec/fiab084.

相关系列产品:

BC2280/BC2285 酸性蛋白酶 (ACP) 活性检测试剂盒

BC2290/BC2295 中性蛋白酶 (NP) 活性检测试剂盒

BC2330/BC2335 糜蛋白酶活性检测试剂盒

