

胃蛋白酶活性检测试剂盒 (微量法)  
(本试剂盒仅供科研使用)

### 产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0406	胃蛋白酶活性检测试剂盒	100 管/48 样

### 产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 50mL × 1 瓶	4°C
试剂一	粉剂 × 1 瓶: 临用前加 10mL 试剂二充分溶解。	4°C, 避光
试剂二	液体 15mL × 1 瓶	4°C
试剂三	粉剂 × 1 瓶: 临用前加 10mL 蒸馏水充分溶解。	4°C

### 一、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, 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。

### 二、自备材料

紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔UV 板、研钵、冰和蒸馏水。

### 三、样品制备

称取约 0.1g 组织加入 1mL 提取液或者 0.1mL 胃液加入 0.9mL 提取液, 进行冰浴匀浆。10000 rpm 4°C 离心 10 分钟, 取上清, 即粗酶液, 置冰上待测。

### 四、操作步骤

**正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。**

- 1、紫外分光光度计/酶标仪预热 30min, 调节波长至 275nm, 蒸馏水调零。
- 2、按照下表进行操作

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	20	
试剂一	100	100
混匀, 37°C 保温 10min。		
试剂三	100	100
摇匀 1min。		
样本		20
混匀后 10000rpm 4°C 离心 10min, 取上清用微量石英比色皿/96 孔 UV 板测定 A <sub>275nm</sub> 。计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。		

## 五、计算公式

### A. 用微量石英比色皿测定的计算公式

#### 1、按照蛋白样本浓度计算

活性单位: 37°C 每 mg 蛋白每 min 催化血红蛋白水解生成 1 $\mu$ mol 酪氨酸为一个酶活单位。

胃蛋白酶 (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、按照样本质量计算

活性单位: 37°C 下每 g 组织每 min 催化血红蛋白水解生成 1 $\mu$ mol 酪氨酸为一个酶活单位。

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

=  $0.786 \times \Delta A \div W$ 。

#### 3、按照液体体积计算

活性单位: 37°C 下每 mL 液体每 min 催化血红蛋白水解生成 1 $\mu$ mol 酪氨酸为一个酶活单位。

胃蛋白酶 (U/mL) =  $(\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}}) \div (V_{\text{样本}} \div V_{\text{提}} \times V_{\text{液}}) \div T = 0.786 \times \Delta A$

C<sub>pr</sub>: 粗酶液蛋白质浓度 (mg/mL), 需要另外测定; V<sub>反总</sub>: 反应总体积, 0.22mL;

V<sub>提</sub>: 粗酶液总体积, 1mL; T: 催化反应时间, 10min; V<sub>样本</sub>: 加入样本体积, 0.02mL;

V<sub>液</sub>: 液体体积, 0.1mL;  $\epsilon$ : 酪氨酸吸光系数, 1.4  $\mu\text{mol}^{-1} \cdot \text{mL} \cdot \text{cm}^{-1}$ ; d: 光程, 1cm。

### B. 用 96 孔板测定的计算公式

#### 1、按照蛋白样本浓度计算

活性单位: 37°C 下每 mg 蛋白每 min 催化血红蛋白水解生成 1 $\mu$ mol 酪氨酸为一个酶活单位。

胃蛋白酶 (U/mg prot) =  $(\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}}) \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 1.31 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$ 。

#### 2、按照样本质量计算

活性单位: 37°C 下每 g 组织每 min 催化血红蛋白水解生成 1 $\mu$ mol 酪氨酸为一个酶活单位。

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

=  $1.31 \times \Delta A \div W$ 。

#### 3、按照液体体积计算

活性单位: 37°C 下每 mL 液体每 min 催化血红蛋白水解生成 1 $\mu$ mol 酪氨酸为一个酶活单位。

胃蛋白酶 (U/mL) =  $(\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}}) \div (V_{\text{样本}} \div V_{\text{提}} \times V_{\text{液}}) \div T = 1.31 \times \Delta A$ 。

C<sub>pr</sub>: 粗酶液蛋白质浓度 (mg/mL), 需要另外测定; V<sub>反总</sub>: 反应总体积, 0.22mL;

V<sub>提</sub>: 粗酶液总体积, 1mL; T: 催化反应时间, 10min; V<sub>样本</sub>: 加入样本体积, 0.02mL;

V<sub>液</sub>: 液体体积, 0.1mL;  $\epsilon$ : 酪氨酸吸光系数, 1.4  $\mu\text{mol}^{-1} \cdot \text{mL} \cdot \text{cm}^{-1}$ ; d: 光程, 0.6cm。

## 六、注意事项

1、对照管后加粗酶液, 而测定管先加粗酶液。