

中性蛋白酶（NP）活性检测试剂盒（可见分光光度法）

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1525

产品规格：50管24样

产品内容：

提取液：液体35mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：粉剂×1瓶，4℃保存。临用前加10 mL蒸馏水溶解。

试剂二：粉剂×1瓶，4℃避光保存。临用前加入10 mL提取液，沸水浴中磁力搅拌溶解。

试剂三：液体50mL×1瓶，4℃保存。

试剂四：液体10mL×1瓶，4℃保存。

标准品：液体1mL×1支，0.25 μmol/mL 标准酪氨酸溶液，4℃保存。

产品说明：

NP在一定的温度和中性pH条件下，催化水解蛋白质。由于其安全无毒、水解能力强、作用范围广等特点，中性蛋白酶常用于食品、饲料、化妆品和营养保健品生产。

中性条件下，NP催化酪蛋白水解产生酪氨酸；在碱性条件下，酪氨酸还原磷钨酸化合物生成钨蓝；在680nm有特征吸收峰。

需自备的仪器和用品：

研钵、台式离心机、可见分光光度计、水浴锅、磁力搅拌器、可调式移液枪、1mL玻璃比色皿、1.5 mL EP 管和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

称约0.1g组织，加入1mL提取液，冰上充分研磨，10000rpm 4℃离心10min，取上清，即粗酶液，置冰上待测。或直接称取0.1g酶制品，加入1mL提取液，置冰上待测。

二、测定：

1.分光光度计预热30min以上，调节波长到680 nm，蒸馏水调零。

2.试剂一、试剂二和试剂三置于30℃水浴保温30min以上。

3.样本测定（在1.5mLEP管中依次加入下列试剂）

试剂名称（uL）	对照管	测定管	空白管	标准管
粗酶液	100	100		
试剂一	200			
试剂二		200		
混匀后30℃水浴保温10min				
上清	200	200		
蒸馏水			200	
标准品				200
试剂三	1000	1000	1000	1000



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q：807961520 731791866

邮箱：shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂四	200	200	200	200
混匀后 30℃水浴保温 20min				

取1mL于1mL玻璃比色皿中，在680nm测定光吸收，分别记为A对照管、A测定管、A空白管、A标准管。

三、NP 酶活性计算：

(1) 按蛋白浓度计算

NP 活性单位 (U) 定义：30℃每毫克蛋白每分钟水解产生 1μmol 酪氨酸。

$$\text{NP 活性 (U/mg prot)} = \frac{C_{\text{标准品}} \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \times V_1 \div (C_{\text{pr}} \times V_2) \div T}{= 0.125 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \div C_{\text{pr}}}$$

(2) 按样本鲜重计算

AP活性单位 (U) 定义：30℃每克样品每分钟催化水解产生 1 μmol 酪氨酸。

$$\text{AP活性 (U/g)} = \frac{C_{\text{标准品}} \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \times V_1 \div (W \times V_2 \div V_3) \div T}{= 0.125 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \div W}$$

C标准品：0.25 μmol/mL 标准酪氨酸溶液；Cpr：粗酶液蛋白质浓度 (mg/mL)；W：样品质量 (g)；V1：酶促反应总体积 (mL)，0.5mL；V2加入反应体系中粗酶液体积 (mL)，0.1 mL；V3粗酶液总体积 (mL)，1mL；T：催化反应时间 (min)，10min。

注意：若反应较弱，(A测定管-A对照管)差值较小，可适当延长反应时间 (20-30min)，即第一步水浴时间，最后计算酶活时对公式进行修改。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com