

土壤亮氨酸氨基肽酶（S-LAP）活性检测试剂盒说明书

微量法

货号：AC10622

规格：100T/48S

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，有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C保存

溶液的配制：

- 1、试剂二：临用前加入 3 mL 丙酮溶解。

产品说明：

S-LAP是一类能水解肽链N-末端为亮氨酸的酶，由土壤微生物分泌。S-LAP活性变化与机体某些病理状态密切相关。

S-LAP分解L-亮氨酸对硝基苯胺生成对硝基苯胺，后者在405nm有最大吸收峰，通过测定吸光值升高速率来计算S-LAP活性。

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

天平、离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵、甲苯、丙酮、30-50目筛、蒸馏水。

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）

土样自然风干，过 30-50 目筛。

二、测定步骤

1、分光光度计/酶标仪预热30min以上，波长调至405nm，蒸馏水调零。

2、加样表：

	测定管	对照管
风干土样（g）	0.03	0.03
甲苯（ μL ）	15	15
震荡混匀，室温静置15min。		
试剂一（ μL ）	255	255
试剂二（ μL ）	30	-
30°C水浴反应1h后立刻煮沸5min。流水冷却至室温。		
试剂二（ μL ）	-	30
14000g常温离心10min，取200 μL 上清于405nm处测定吸光值，分别记为A测定管、A对照管，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。		

三、酶活计算公式

A 按微量比色皿计算:

酶活性定义: 每克土壤每分钟生成1nmol对硝基苯胺为一个酶活力单位。

$$\text{S-LAP 活性 (U/g 土样)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 0.507 \times \Delta A \div W$$

ϵ : 对硝基苯胺摩尔消光系数: $9.87 \times 10^3 \text{L/mol/cm}$; d : 比色皿光径, 1cm; $V_{\text{反总}}$: 反应总体积, $300 \mu\text{L} = 3 \times 10^{-4} \text{L}$;

W : 土样质量, g; T : 反应时间, 60min; 10^9 : 单位换算系数, $1 \text{mol} = 10^9 \text{nmol}$ 。

B 按96孔板计算:

酶活性定义: 每克土壤每分钟氧化1nmol对硝基苯胺为一个酶活力单位。

$$\text{S-LAP 活性 (U/g 土样)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 0.844 \times \Delta A \div W$$

ϵ : 对硝基苯胺摩尔消光系数: $9.87 \times 10^3 \text{L/mol/cm}$; d : 96孔板光径, 0.6cm; $V_{\text{反总}}$: 反应总体积, $300 \mu\text{L} = 3 \times 10^{-4} \text{L}$;

W : 土样质量, g; T : 反应时间, 60min; 10^9 : 单位换算系数, $1 \text{mol} = 10^9 \text{nmol}$ 。

实验实例:

1、称取两管 0.03g 三叶草土样, 分别记为测定管和对照管, 按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.6 - 0.17 = 0.43$, 计算酶活得:

$$\text{S-LAP 活性 (U/g 土样)} = 0.844 \times \Delta A \div W = 0.844 \times 0.43 \div 0.03 = 12.097 \text{ U/g 土样}。$$

2、称取两管 0.03g 土样, 分别记为测定管和对照管, 按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.569 - 0.128 = 0.441$, 计算酶活得:

$$\text{S-LAP 活性 (U/g 土样)} = 0.844 \times \Delta A \div W = 0.844 \times 0.441 \div 0.03 = 12.407 \text{ U/g 土样}。$$