

土壤亮氨酸氨基肽酶 (S-LAP)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
YFX0801	土壤亮氨酸氨基肽酶 (S-LAP)活性检测试剂盒	100 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 30mL ×1 瓶	4°C
试剂二	粉剂×1 瓶; 临用前加入 3mL 丙酮溶解。	4°C, 避光

一、产品说明

土壤亮氨酸氨基肽酶 (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。

土壤亮氨酸氨基肽酶(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。

二、自备材料

可见分光光度计/酶标仪、天平、离心机、微量玻璃比色皿/96孔板、甲苯、丙酮、30目筛(或更小)。

三、样本准备:

新鲜土样自然风干或 37°C烘箱风干, 过 30-50 目筛。

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、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 405nm, 蒸馏水调零。

2、操作表

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

五、S-LAP 酶活的计算

1、使用微量比色皿检测的计算方式:

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。

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

ϵ : 对硝基苯胺摩尔消光系数: 9.87×10^3 L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; V 反应: 反应总体积, $300\mu\text{L} = 3 \times 10^{-4}$ L; W: 土样质量, g; T: 反应时间, 60min; 10^9 : 单位换算系数, $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ 。

2、使用 96 孔酶标板检测的计算方式

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。

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

ϵ : 对硝基苯胺摩尔消光系数: 9.87×10^3 L/mol/cm; d: 96 孔板光径, 0.6cm; V 反应: 反应总体积, $300\mu\text{L} = 3 \times 10^{-4}$ L; W: 土样质量, g; T: 反应时间, 60min; 10^9 : 单位换算系数, $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ 。