



土壤亮氨酸氨基肽酶检测试剂盒 S-LAP Assay Kit

微量法

产品编号：AK440M

产品规格：100T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK440-A	35mL×1 瓶	4℃保存；
AK440-B	粉剂×1 瓶	-20℃保存；

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：土壤亮氨酸氨基肽酶（Solid-Leucine Aminopeptidase, 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。

原理：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。

自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、96 孔板/微量石英比色皿和蒸馏水。

粗酶液提取：

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，过 30~50 目筛。

测定步骤：

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. 在 AK440-B 瓶中加入 15mL AK440-A 充分溶解（如较难溶解，可 60℃水浴加热约 30min 促进溶解）；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。
3. 样本测定，（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管 (μL)	对照管 (μL)
新鲜土样 (g)	0.05g	0.05g
AK440-A	300	
AK440-B		300

混匀，37℃振荡反应 1h 后，8000g 4℃离心 10min，取 200μL 上清液于微量石英比色皿或 96 孔板中，405nm 处测定吸光值 A，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管设一个对照管。

S-LAP 活力计算：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

单位定义：每天每 g 土样每天生成 1 μmol 对硝基苯胺定义为一个酶活力单位。

$$S-LAP (\mu\text{mol/d/g 土样}) = \Delta A \times V \text{ 反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \div W \div T = 14.8 \times \Delta A$$

注：V 反总：反应体系总体积， 3×10^{-4} L； ϵ ：对硝基苯胺摩尔消光系数， 9.72×10^3 L / mol / cm；d：比色皿光径，1cm；T：反应时间，1h=1/24d；W：样本质量，0.05g。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

单位定义：每天每 g 土样每天生成 1 μmol 对硝基苯胺定义为一个酶活力单位。

$$S-LAP (\mu\text{mol/d/g 土样}) = \Delta A \times V \text{ 反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \div W \div T = 29.6 \times \Delta A$$

注：V 反总：反应体系总体积， 3×10^{-4} L； ϵ ：对硝基苯胺摩尔消光系数， 9.72×10^3 L / mol / cm；d：比色皿光径，0.5cm；T：反应时间，1h=1/24d；W：样本质量，0.05g。