

上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

土壤中性蛋白酶活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体20mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前加入10mL试剂一，沸水浴搅拌溶解后待用
试剂三	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前加入10mL 蒸馏水充分溶解待用
试剂四	液体20mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂五	液体5mL×1 瓶	4℃保存	-
标准品	液体1mL×1 支	4℃保存	0.25 μmol/mL 酪氨酸溶液

产品说明：

土壤蛋白酶参与土壤中存在的氨基酸、蛋白质以及其他含蛋白质氮的有机化合物的转化，其水解产物是高等植物的氮源之一。土壤中性蛋白酶在中性环境下催化蛋白质水解，与土壤有机质含量、氮素及其他土壤性质有关。中性条件下，土壤中性蛋白酶可将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。

实验中所需仪器及设备：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液枪、微量比色皿/96孔板、蒸馏水、50目筛（或更小）。

样品处理：

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30~50 目筛。

操作步骤：

1、分光光度计/酶标仪预热30min 以上，调节波长至680nm，蒸馏水调零。

2、样本测定：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.05	0.05	-	-
试剂一 (μL)	50	50	-	-
试剂二 (μL)	100		-	-
混匀后，37℃反应24h，期间振荡5-6次，使土样与反应液充分接触。			-	-
试剂三 (μL)	100	100	-	-
试剂二 (μL)	-	100	-	-
混匀，10000rpm 室温离心10min，取上清液			-	-
上清液 (μL)	44	44	-	-
标准液 (μL)	-	-	44	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	44
试剂四 (μL)	130	130	130	130
试剂五 (μL)	26	26	26	26

混匀，40℃水浴 10min，10000rpm 室温离心 10min，取上清液于 680nm 下读取各管吸光值 A，分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

注意：标准管、空白管只需测一次。每个测定管设一个对照管。

土壤中性蛋白酶活性计算：

单位定义：每天每g土样中产生1 μmol 酪氨酸为一个土壤中性蛋白酶活力单位。

土壤中性蛋白酶(U/g) = $C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 0.0625 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$ 。
 C 标准管：标准管浓度，0.25 μmol/mL；V 反总：酶促反应总体积，0.25mL；T：反应时间，1d；W：样本质量，g。

注意事项：

1、当吸光值大于1.5时，建议将上清液稀释后进行测定，计算时注意乘以稀释倍数。