

上海茁彩生物科技有限公司  
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0895

Size: 100T/96S

## 土壤亮氨酸氨基肽酶 (S-LAP) 检测试剂盒说明书

## 微量法

\*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

## 一、测定意义:

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。

## 二、测定原理:

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。

## 三、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、甲苯、丙酮、30 目筛 (或更小)。

## 四、试剂的组成和配置:

| 种类  | 试剂规格          | 储存条件    | 使用方法及注意事项      |
|-----|---------------|---------|----------------|
| 试剂一 | 液体 30mL × 1 瓶 | 4℃ 保存   |                |
| 试剂二 | 粉剂 × 1 瓶      | 4℃ 避光保存 | 临用前加入 3mL 丙酮溶解 |

## 五、操作步骤：

### ● 样本处理

土样自然风干，过 30-50 目筛。

### ● 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  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|------|
| 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℃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 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 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。 |      |      |

## 六、酶活计算公式

### ● 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。

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

$\varepsilon$  : 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,  $1\text{cm}$ ;  $V$  反总: 反应总体积,  $300\mu\text{L}=3 \times 10^{-4} \text{ L}$ ;  $W$ : 土样质量,  $\text{g}$ ;  $T$ : 反应时间,  $60\text{min}$ ;  $10^9$ : 单位换算系数,  $1\text{mol}=10^9\text{nmol}$ 。

● 按 96 孔板计算:

酶活性定义: 每克土壤每分钟氧化  $1\text{nmol}$  对硝基苯胺为一个酶活力单位。

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

$\varepsilon$  : 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,  $0.6\text{cm}$ ;  $V$  反总: 反应总体积,  $300\mu\text{L}=3 \times 10^{-4} \text{ L}$ ;  $W$ : 土样质量,  $\text{g}$ ;  $T$ : 反应时间,  $60\text{min}$ ;  $10^9$ : 单位换算系数,  $1\text{mol}=10^9\text{nmol}$ 。