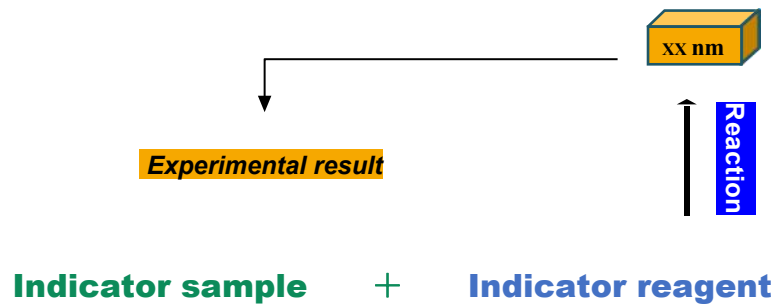


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## 土壤亮氨酸氨基肽酶（S-LAP）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

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。

自备实验用品及仪器：

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）。

操作步骤：

### 一、样本处理

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
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ΔA=A测定管-A对照管。

### 三、酶活计算公式

#### 1 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。

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

$\epsilon$ ：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， $1\text{mol} = 10^9 \text{ nmol}$ 。

#### 2 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。

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

$\epsilon$ ：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， $1\text{mol} = 10^9 \text{ nmol}$ 。