

Soil Neutral Protease Activity Assay Kit

土壤中性蛋白酶(S-NPT)试活性检测试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1769A	土壤中性蛋白酶(S-NPT)试活性检测试剂盒 分光法	24T

产品简介:

蛋白酶是广泛存在于土壤中的一大酶类，它能水解各种蛋白质以及肽类等化合物为氨基酸，因此土壤蛋白酶的活性与土壤中氮素的转化状况有极其重要的关系。

土壤中性蛋白酶（S-NPT）在中性条件下将酪蛋白水解产生酪氨酸；酪氨酸与福林酚在碱性条件下反应生成蓝色化合物；该蓝色物质在 680nm 有特征吸收峰，进而得 S-NPT 酶活，由于底物酪蛋白自身含有多种氨基酸，所以在检测过程中必须设置带有底物酪蛋白的对照，以扣除有干扰的背景值，排除假阳性。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	120mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉末×2 瓶	4°C保存	临用前甩几下使粉末落入底部，每瓶加入 3mL 试剂三 90°C加热搅拌至分散（约 10-20min），再加 27mL 试剂一搅拌至溶解（约需 30min）；配置完的试剂 4°C保存，三天内用完。
试剂三	10mL×1 瓶	4°C保存	用前摇匀。
试剂四	30mL×1 瓶	4°C保存	用前摇匀。
试剂五	20mL×1 瓶	4°C保存	用前摇匀。
试剂六	5mL×1 瓶	4°C保存	现用现配，临用前加 10mL 蒸馏水，4°C保存，一星期内用完。
标准品	粉末×1 支	4°C保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

【注】：试剂二若在磁力搅拌器（带温控）上溶解，可用锡箔纸或保鲜膜盖住烧杯，以免溶解过程中水分蒸发过快。

使用方法:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

一、样本准备

取新鲜土样或者 37 度烘箱风干（需先粗研磨），过 40 目筛网备用。

二、样品测定

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 680nm，蒸馏水调零。
2. 配制好的试剂二需预先 50°C水浴 10min。
3. 在离心管中依次加入：

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



试剂名称 (μL)	测定管	对照管
土样 (g)	0.2g 鲜土 或 0.1g 干土	0.2g 鲜土 或 0.1g 干土
试剂一	500	500
试剂二	500	-
50°C振荡培养 2h, 同时, 余下的试剂二须单独 50°C振荡培养 2h		
上步单独 50°C培养过的试剂二	-	500
试剂四	500	500
混匀, 立即 1700rpm (须准确), 4°C离心 10min, 上清液待用		

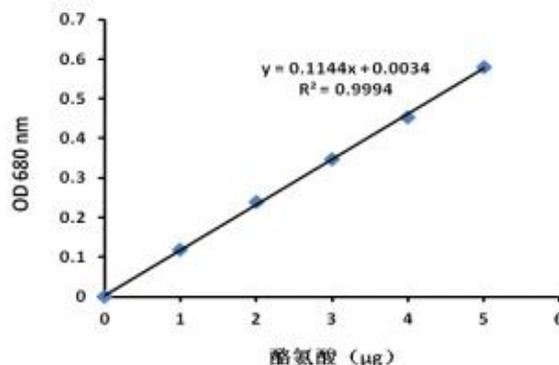
4. 显色反应: 在离心管中依次加入

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
上清液	250	250
试剂五	375	375
试剂六	250	250
室温静置 20min (若仍浑浊, 可以延长静置时间至 30min 或 1700rpm 离心 10min), 取全部上清液于 1mL 玻璃比色皿中, 于 680nm 读取吸光值 A, $\Delta A = A_{测定管} - A_{对照管}$ 。		

【注】: 若 ΔA 的值低于 0.01, 可以加样土样取样量 W (如两倍的土壤质量), 或增加反应时间 T (如由 2h 增加到 6h 或更长), 则改变后的 W 和 T 需带入公式重新计算。

三、结果计算

1. 标准曲线方程: $y = 0.1144x + 0.0034$, x 是标准品质量 (μg), y 是 ΔA 。



2. 单位定义: 每小时每克鲜土中产生 1μg 酪氨酸为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{土壤中性蛋白酶(S-NPT)} (\mu\text{g/h/g 鲜土}) &= (\Delta A - 0.0034) \div 0.1144 \div (W1 \times V1 \div V2) \div T \\ &= 26.2 \times (\Delta A - 0.0034) \div W1 \end{aligned}$$

3. 单位定义: 每小时每克干土中产生 1μg 酪氨酸为一个酶活力单位。

同等质量的鲜土 (参与实际反应的鲜土质量) 在 105°C 烘干, 即得相应的干土质量。

$$\begin{aligned} \text{土壤中性蛋白酶(S-NPT)} (\mu\text{g/h/g 干土}) &= (\Delta A - 0.0034) \div 0.1144 \div (W2 \times V1 \div V2) \div T \\ &= 26.2 \times (\Delta A - 0.0034) \div W2 \end{aligned}$$

W1---样本质量, 以实际称取鲜土质量为准

W2---相对应的干土质量

V1---显色反应步骤中加入的上清液体积, 250μL = 0.25mL

T---反应时间, 2h

V2---培养步骤中总的反应体积, 1500μL = 1.5mL

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液（100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：标准品溶解于 100mL 的 0.1mol/L 的盐酸溶液中（母液需在两天内用且-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存）。
2. 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0，4，8，12，16，20. $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据测定管的显色反应阶段加样表依次加样，根据结果即可制作标准曲线。

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4 $^{\circ}\text{C}$ 保存六个月。

