

Soil Leucine Aminopeptidase Activity Assay Kit

土壤亮氨酸氨基肽酶(S-LAP)活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1777B	土壤亮氨酸氨基肽酶(S-LAP)活性检测试剂盒 微板法	96T

产品简介:

土壤亮氨酸氨基肽酶 (LAP, EC 3.4.11.1) 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。该酶活性变化与机体某些病理状态密切相关。

土壤亮氨酸氨基肽酶(S-LAP)分解 L-亮氨酸对硝基苯胺生成对硝基苯胺, 该物质在 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。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件	备注
试剂一	120mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉末×2 支	-20℃保存	临用前甩几下, 使试剂落入底部, 再加 2.7mL 乙醇混匀溶解。
试剂三	70mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉末×1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

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

取新鲜土样或干土 (风干或者 37 度烘箱风干), 先粗研磨, 过 40 目筛网备用。

【注】: 土壤风干, 减少土壤中水分对于实验的干扰; 土壤过筛, 保证取样的均匀细腻。

二、样品测定

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 405nm。

2. 在离心管中加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管 (仅做一次)
土样 (g)	0.05	0.05	-
试剂一	450	500	450
试剂二	50	-	50
充分混匀, 37℃培养 1 小时 (振荡培养或间隔 20min 手动振荡混匀几下)			
试剂三	300	300	300
混匀, 8000rpm 离心 5min (若上清液不澄清可加大离心力), 取 200μL 上清液至 96 孔板中, 405nm 下读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}$ (每个样本做一个自身对照)。			

【注】 1. 若 ΔA 在零附近徘徊, 可延长 37℃的孵育时间 T (如增至 4 小时或更长), 或增加土样质量 W (如增至 0.2g)。则改变后的 T 和 W 需代入计算公式重新计算。

2. 若测定管 A 值大于 1.5 或 ΔA 大于 1.5, 可缩短 37℃的孵育时间 T (如减至 0.5 小时或更短)。则

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

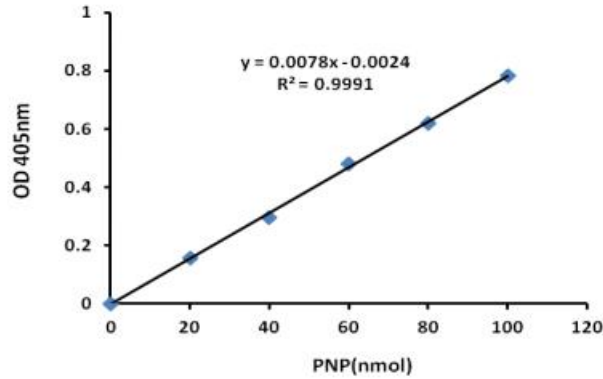
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



改变后 T 需代入计算公式重新计算。或对最后一步的待检测上清液（包括测定管、对照管和空白管）同时用蒸馏水进行稀释，稀释倍数 D 代入计算公式。

三、结果计算

1. 标准曲线: $y = 0.0078x - 0.0024$; x 为标准品摩尔质量 (nmol), y 为 ΔA 。



2. 单位定义: 每小时每克土样生成 1 nmol 对硝基苯胺定义为一个酶活力单位。

$$S-LAP(\text{nmol/h/g 土样}) = (\Delta A + 0.0024) \div 0.0078 \div W \div T \times D = 128.2 \times (\Delta A + 0.0024) \div W \times D$$

T---反应时间, 1h

W---实际称取土样质量, g

D---稀释倍数, 未稀释即为 1

附: 标准曲线制作过程:

1. 制备标准品母液 (50 $\mu\text{mol/mL}$): 临用前甩几下或离心, 使粉体落入底部, 加入 0.5mL 乙醇, 涡旋震荡溶解后再加入 0.5mL 的蒸馏水混匀, 得到 50 $\mu\text{mol/mL}$ 备用。
2. 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度: 0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2 $\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 在离心管依次加入: 350 μL 标准品+450 μL 试剂一+300 μL 试剂三, 混匀, 取 200 μL 至 96 孔板中, 于 405nm 下读取吸光值, 根据结果制作标准曲线。

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:

-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存六个月。

