

Soil-Leucine Aminopeptidase Activity Assay Kit

土壤亮氨酸氨基肽酶 (S-LAP) 说明书

货号: G0329W96 | 方法: 微板法 | 规格: 96 样

一、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。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存条件	备注
试剂一	液体 120mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉剂 mg×2 支	-20°C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	液体 70mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉剂 mg×1 支	4°C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、台式离心机、恒温振荡培养箱/水浴锅、可调式移液器、天平。

四、土壤亮氨酸氨基肽酶 (S-LAP) 活性测定:

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!

1、样本处理:

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;

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 405nm。

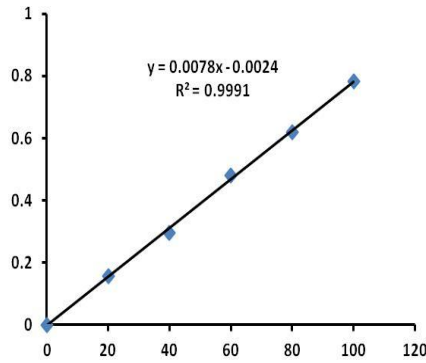
② 在 EP 管中依次加入:

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°C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, $\Delta A = A_{测定} - A_{对照} - A_{空白}$ (每个样本做一个自身对照)。			

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调; 针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

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



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持

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。

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

T---反应时间，1h；

W---土壤样本实际取样量，g。

D---稀释倍数，未稀释即为 1。