

土壤亮氨酸氨基肽酶（S-LAP）检测试剂盒（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。

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。

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。

试剂组成和配制：

试剂一：液体 35mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂二：粉剂×1 瓶，-20℃ 保存；

S-LAP 测定步骤：

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 405nm，蒸馏水调零。
- 2、在试剂二瓶中加入 15mL 试剂一充分溶解（如较难溶解，可 60℃ 水浴加热约 30min 促进溶解）；用不完的试剂分装后-20℃ 保存，禁止反复冻融。

3、操作表

试剂名称	对照管	测定管
新鲜土样（g）	0.05	0.05
试剂一（ μL ）	300	
试剂二（ μL ）		300

混匀，37℃ 振荡反应 1h 后，8000g 4℃ 离心 10min，取 200 μL 上清液于微量石英比色皿或 96 孔板中，405nm 处测定吸光值 A，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ，每个测定管设一个对照管。

S-LAP 活力单位的计算:

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

单位的定义: 每天每 g 土样每天生成 1 μmol 对硝基苯胺定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{S-LAP } (\mu\text{mol/d/g 土样}) &= \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \div W \div T \\ &= 14.8 \times \Delta A \end{aligned}$$

V 反总: 反应体系总体积, 3×10^{-4} L;

ϵ : 对硝基苯胺摩尔消光系数, 9.72×10^3 L / mol / cm;

d: 比色皿光径, 1cm;

T: 反应时间, 1h=1/24d;

W: 样本质量, 0.05g。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

单位的定义: 每天每 g 土样每天生成 1 μmol 对硝基苯胺定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{S-LAP } (\mu\text{mol/d/g 土样}) &= \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \div W \div T \\ &= 29.6 \times \Delta A \end{aligned}$$

V 反总: 反应体系总体积, 3×10^{-4} L;

ϵ : 对硝基苯胺摩尔消光系数, 9.72×10^3 L / mol / cm;

d: 比色皿光径, 0.5cm;

T: 反应时间, 1h=1/24d;

W: 样本质量, 0.05g。