

CheKine™ 土壤亮氨酸氨基肽酶 (S-LAP) 活性检测试剂盒（微量法）

Cat #: KTB4020

Size: 96 T/96 S

	土壤亮氨酸氨基肽酶 (S-LAP) 活性检测试剂盒（微量法）		
REF	货号: KTB4020	LOT	批号: 见产品标签
	适用样本: 土壤		
	保质期: 4°C, 避光保存 12 个月		

原理

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。CheKine™ 土壤亮氨酸氨基肽酶 (S-LAP) 活性检测试剂盒（微量法）提供了一种简单、方便、快速的土壤 S-LAP 活性检测方法。其检测原理为 S-LAP 分解 L-亮氨酸-4-硝基苯胺生成对硝基苯胺, 在 405 nm 有最大吸收峰, 通过测定吸光值升高速率来计算 S-LAP 活性。

包装清单

试剂盒组分	规格	储存条件
Reagent I	72 mL	4°C
Reagent II	Powder×1 vial	4°C, 避光保存

注意: 正式检测前, 建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或可见分光光度计（能测 405 nm 处的吸光度）
- 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
- 离心机、水浴锅
- 去离子水

试剂准备

Reagent I: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

Reagent II: 临用前配制; 临用前加入 36 mL Reagent I; 充分溶解待用（较难溶解时, 可 60°C 水浴加热约 30 min 促进溶解）, -20°C 分装保存, 禁止反复冻融。

注意: **Reagent II** 有一定的刺激性, 建议在使用过程中做好个人防护。

样本制备

推荐使用新鲜土壤样本

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30 min，调节波长到 405 nm。可见分光光度计用去离子水调零。
2. 酶促反应（下述操作在 1.5 mL 离心管中操作）：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)
样本 (mg)	50	50
Reagent I	0	300
Reagent II	300	0

混匀，37℃振荡反应 1 h 后，8,000 g，4℃离心 10 min，取 200 μL 上清液于 96 孔板或微量玻璃比色皿中，405 nm 处测定吸光值 A，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。每个测定管设一个对照管。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.02 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 1.0，样本可用 Reagent I 稀释后进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

A. 使用 96 孔板测定的计算公式

单位的定义：每克土样每分钟生成 1 nmol 对硝基苯胺定义为一个酶活力单位。

$$S\text{-LAP (U/g 土样)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div W \div T = \mathbf{1.013 \times \Delta A \div W}$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 3×10^{-4} L； ϵ ：对硝基苯胺摩尔消光系数， 9.87×10^3 L/mol/cm； d ：微量比色皿光径，0.5 cm； T ：反应时间，1 h=60 min； W ：样本质量，g； 10^9 ：单位换算系数，1 mol= 1×10^9 nmol。

B. 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径 d : 0.5 cm 调整为 d : 1 cm 进行计算即可。

结果展示

实验实例：

1. 取 0.05 g 新鲜土壤使用 96 孔板检测，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = 0.266 - 0.053 = 0.213$ ，代入公式得该土壤样本中 S-LAP (U/g 土样) = $1.013 \times 0.213 \div 0.05 = 4.32$ U/g。

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB3040	CheKine™ 谷氨酸合成酶（GOGAT）活性检测试剂盒（微量法）
KTB3041	CheKine™ 谷氨酸脱氢酶（GDH）活性检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

