

土壤亮氨酸氨基肽酶 (Solid-Leucine Aminopeptidase, S-LAP)

试剂盒说明书

微量法 100管/48样

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

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。

自备用品：

酶标仪/可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、96孔板/微量石英比色皿和蒸馏水。

试剂的组成和配制：

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200μL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。

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

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。

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

$V_{\text{反总}}$: 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, $1\text{h} = 1/24\text{d}$; W : 样本质量, 0.05g。

www.affandi-e.com