

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

试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 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:

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

试剂的组成和配制:

试剂一: 液体 65mL×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 30mL 试剂一充分溶解 (如较难溶解, 可 60℃ 水浴加热约 30min 促进溶解); 在 37℃ (哺乳动物) 或 25℃ (其它物种) 水浴 10min 以上; 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)	0.2	0.2
试剂一 (μL)	1200	
试剂二 (μL)		1200

混匀, 37℃ 振荡反应 1h 后, 8000g 4℃ 离心 10min, 取 1mL 上清液于比色皿中, 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, 1.2×10^{-3} 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, 0.2g。