

土壤中性蛋白酶(S-NPT)检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1835

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/24S 96T/48S

产品简介

土壤蛋白酶参与土壤中存在的氨基酸、蛋白质以及其他含蛋白质氮的有机化合物的转化，其水解产物是高等植物的氮源之一。土壤中性蛋白酶(S-NPT) 在中性环境下催化蛋白质水解，与土壤有机质含量、氮素及其他土壤性质有关。本试剂盒提供了一种简单、快速的土壤中性蛋白酶(S-NPT) 检测方法，其检测原理是：中性条件下，土壤中性蛋白酶(S-NPT) 可将酪蛋白水解产生酪氨酸；在碱性条件下，酪氨酸还原磷钼酸生成钨蓝；在 680nm 有特征吸收峰。测定 680nm 吸光度增加速率，来计算土壤中性蛋白酶(S-NPT) 活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	10mL	20mL	4℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	4℃避光保存
试剂三	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	4℃保存
试剂四	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	4℃保存
试剂五	4mL	8mL	4℃避光保存
试剂六	2. 5mL	5mL	4℃保存
标准品	1mL	1mL	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 680nm 处的吸光度）

水浴锅、磁力搅拌器、低温离心机

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水

30-50 目筛

试剂准备

试剂一：即用型；使用前平衡到室温；4℃保存。

试剂二：临用前 48T 加入 3mL 去离子水，96T 加入 6ml 去离子水充分溶解；用不完的试剂 4℃保存。

试剂三：临用前 48T 加入 1mL 试剂六，96T 加入 2mL 试剂六，沸水浴加热溶解；然后 48T 加入 4mL 试剂一，96T 加入 8ml 试剂一，充分混匀备用，用不完的试剂 4℃保存。

试剂四：临用前 48T 加入 15mL 去离子水，96T 加入 30ml 去离子水充分溶解待用；用不完的试剂 4℃保存。

试剂五：即用型；使用前平衡到室温；4℃保存。

试剂六：即用型；使用前平衡到室温；4℃保存。

标准品：即用型；使用前平衡到室温；0. 05mg/mL 标准酪氨酸溶液，4℃保存。

样本制备

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，过 30-50 目筛。

实验步骤

产品说明书

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 680nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 试剂二、三和四 40℃水浴 10min。
3. 样本测定（在 EP 管中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管
风干土样(g)	0.02	0.02
试剂一（μL）	0	150
试剂三（μL）	150	0

混匀后，40℃水浴 30min，振荡 5-6 次，使土样与反应液充分接触

试剂二（μL）	50	50
---------	----	----

混匀，8,000g 25℃离心 10min，取上清液，在 EP 管中依次加入下列试剂：

	标准管（μL）	空白管（μL）	测定管（μL）	对照管（μL）
上清液（μL）	0	0	50	50
去离子水	0	50	0	0
标准品	50	0	0	0
试剂四（μL）	280	280	280	280
试剂五（μL）	60	60	60	60

混匀，40℃水浴 20min，8,000g 25℃离心 10min，取 200 μL 于 96 孔板或微量玻璃比色皿，测定 680nm 处的吸光值。计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。每个测定管需设一个对照，标准和空白只需要测一次。

注意：1. 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 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 $A_{\text{测}}$ 大于 2.0，样本反应后的上清液可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以进一步稀释的稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

单位定义：每天每 g 土样中产生 1mg 酪氨酸为一个 S-NPT 活力单位 U。

$$\text{S-NPT(U/g 土样)} = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反总}} \times \text{稀释倍数} \div W \div T = 72 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}})$$

$C_{\text{标}}$ ：标准品浓度，0.05mg/mL； $V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，0.15mL；稀释倍数：(150+50) ÷ 50=4；T：反应时间，30min=1/48d；W：样本质量，0.02g。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1131 酸性蛋白酶检测试剂盒（微量法）
- PMK1132 中性蛋白酶检测试剂盒（微量法）
- PMK1133 碱性蛋白酶检测试剂盒（微量法）
- PMK1836 土壤碱性蛋白酶(S-ALPT)检测试剂盒（微量法）
- PMK1834 土壤酸性蛋白酶(S-ACPT)检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

