

产品说明书

土壤碱性蛋白酶(S-ALPT)检测试剂盒(微量法)

货号：PMK1836

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。土壤碱性蛋白酶(S-ALPT)在碱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、快速的土壤碱性蛋白酶(S-ALPT)检测方法，其检测原理是：在碱性条件下，土壤碱性蛋白酶(S-ALPT)水解酪蛋白生成酪氨酸；在碱性条件下，酪氨酸还原磷钼酸生成钨蓝；钨蓝在680nm有特征吸收峰，测定680nm吸光度增加速率，来计算土壤碱性蛋白酶(S-ALPT)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

- 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。
- 试剂二、三和四 40℃水浴 10min。
- 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)	60	60
----------	----	----

混匀，8000g 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	60	60
去离子水	0	60	0	0
标准品	60	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，8000g 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 $\Delta A_{\text{测}}$ 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，或适当减少样本量，注意调整公式中的样本质量 W。

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-ALPT 活力单位 U。

$$S\text{-ALPT}(\text{U/g 土样}) = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反总}} \times \text{稀释倍数} \div W \div T = 63 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}})$$

C_标：标准品浓度，0.05mg/mL；V_{反总}：反应体系总体积，0.15mL；稀释倍数：(150+60) ÷ 60=3.5；T：反应时间，30min=1/48d；W：样本质量，0.02g。

注意事项

- 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规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
- 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。
- 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
- 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。
- 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1133 碱性蛋白酶检测试剂盒（微量法）
PMK1834 土壤酸性蛋白酶(S-ACPT)检测试剂盒（微量法）
PMK1835 土壤中性蛋白酶(S-NPT)检测试剂盒（微量法）
PMK1825 土壤硝酸还原酶(S-NR)检测试剂盒（微量法）
PMK1833 土壤亚硝酸还原酶(S-NiR)检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

