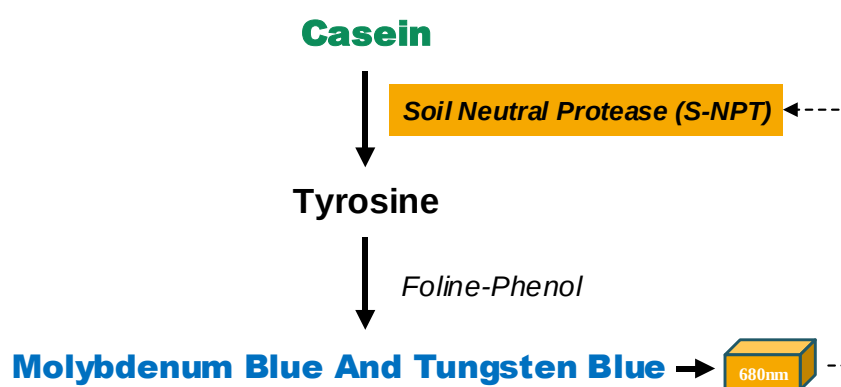




土壤中蛋白酶（S-NPT）活性检测试剂盒
Soil Neutral Protease (S-NPT) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



土壤中性蛋白酶（S-NPT）活性检测试剂盒

Soil Neutral Protease (S-NPT) Activity Assay Kit

一、产品描述

土壤蛋白酶主要通过微生物活动、植物根系分泌和动植物残体的分解而富集，是土壤中一种重要的胞外酶，主要参与土壤中氨基酸、蛋白质以及其它含蛋白质氮等有机化合物的转化，水解产物是高等植物的氮源之一。土壤中性蛋白酶（S-NPT）能够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密切相关。

土壤中性蛋白酶能够在中性条件下催化酪蛋白水解产生酪氨酸，酪氨酸在碱性条件下能够还原磷酸钼酸生成钼蓝，产物在 680 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征土壤中性蛋白酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C避光保存	使用前加入 10 mL 试剂一充分溶解（沸水浴中溶解，密封以防止水分散失）
试剂三	粉剂×1 瓶	4°C避光保存	使用前加入 15 mL 蒸馏水充分溶解
试剂四	液体 20 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂五	液体 5 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C避光保存	10 μmol/mL 酪氨酸标准液
标准稀释液的制备（现用现配）：将 10 μmol/mL 酪氨酸标准液使用蒸馏水稀释至 1.0、0.8、0.4、0.2、0.1、0.05 μmol/mL 即为标准稀释液。			

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度（μmol/mL）	10	10	0.8	0.4	0.2	0.1
标准液体积（μL）	100	80	500	500	500	500
蒸馏水体积（μL）	900	920	500	500	500	500
稀释后浓度（μmol/mL）	1.0	0.8	0.4	0.2	0.1	0.05

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、可调式移液器、台式离心机、30-50 目筛、37℃烘箱、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 土壤样本预处理

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

2. 测定步骤

①分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 680 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂（可根据预实验结果适当调整样本量）：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
风干土样 (mg)	50	50	-	-
试剂一	100	100	-	-
试剂二	50	-	-	-
充分混匀，37℃反应 24 h，期间振荡混匀 5-6 次				
试剂三	100	100	-	-
试剂二	-	50	-	-
充分混匀，10000 rpm 常温离心 10 min，取上清				
上清液	40	40	-	-
标准应用液	-	-	40	-
蒸馏水	-	-	-	40
试剂四	130	130	130	130
试剂五	30	30	30	30
充分混匀，40℃显色 10 min				
10000 rpm 常温离心 10 min，取上清				

吸光值测定：测定 680 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定 = A 测定 - A 对照， ΔA 标准 = A 标准 - A 空白。注：每个测定管均需设一个对照管，空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 1.0、0.8、0.4、0.2、0.1、0.05 $\mu\text{mol/mL}$ 为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到 x ($\mu\text{mol/mL}$)。

3. 土壤中性蛋白酶 (S-NPT) 活性计算

单位定义：每天每 g 风干土样生成 1 μmol 酪氨酸定义为一个 S-NPT 活力单位。

$$\text{S-NPT (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{反总}}}{W \times T} = \frac{0.25 \times x}{W}$$

注释：V 反总：反应体系总体积，0.25 mL；T：反应时间，24 h=1 d；W：风干土样质量，g。

四、注意事项

①若 A 测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将离心后上清液适当稀释后再进行测定；低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

