Soil Neutral protease (S-NPT) Activity Assay Kit

土壤中性蛋白酶（S-NPT）试剂盒说明书

货号：BN72579 | 方法：微板法 | 规格：48 样

一、产品简介：

蛋白酶是广泛存在于土壤中的一大酶类，它能水解各种蛋白质以及肽类等化合物为氨基酸，因此土壤蛋白酶的活性与土壤中氮素的转化状况有极其重要的关系。

土壤中性蛋白酶（S-NPT）在中性条件下将酪蛋白水解产生酪氨酸；酪氨酸与福林酚在碱性条件下反应生成蓝色化合物；该蓝色物质在 680nm 有特征吸收峰，进而得 S-NPT 酶活，由于底物酪蛋白自身含有多种氨基酸，所以在检测过程中必须设置带有底物酪蛋白的对照，以扣除有干扰的背景值，排除假阳性。

二、测试盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 120mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂 mg×2 瓶	4℃保存	临用前甩几下使粉剂落入底部，每瓶加入 3mL 试剂三 90℃加热搅拌至分散（约 10-20min），再加 27mL 试剂一搅拌至溶解（约需 30min）；配置完的试剂 4℃保存，三天内用完。
试剂三	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	用前摇匀。
试剂四	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	用前摇匀。
试剂五	液体 35mL×1 瓶	4℃保存	用前摇匀。
试剂六	液体 12.5mL×1 棕色瓶	4℃保存	现用现配，临用前加 25mL 蒸馏水，4℃保存，一星期内用完。
标准品	粉体 mg×1 支 EP	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

【注】:试剂二若在磁力搅拌器（带温控）上溶解，可用锡箔纸或保鲜膜盖住烧杯，以免溶解过程中水分蒸发过快。

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、水浴锅、磁力搅拌器、可调式移液枪、蒸馏水

四、土壤中性蛋白酶（S-NPT）活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

取新鲜土样或者 37 度烘箱风干（需先粗研磨），过 40 目筛网备用。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 680nm。

② 配制好的试剂二需预先 50℃水浴 10min。

③ 在 EP 管中依次加入下列试剂培养：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
土样（g）	0.2g 鲜土 或 0.1g 干土	0.2g 鲜土 或 0.1g 干土
试剂一	500	500
试剂二	500	

50℃振荡培养 2h，同时，余下的试剂二须单独 50℃振荡培养 2h		
上步单独 50℃培养过的试剂二		500
试剂四	500	500
混匀，立即 1700rpm（须准确），4℃离心 10min，上清液待用		

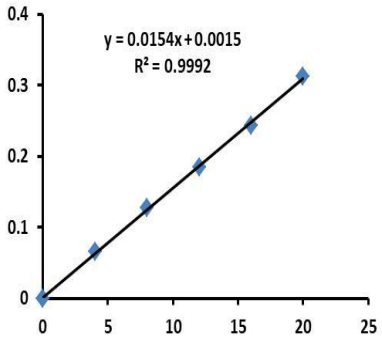
④ 显色反应：在 EP 管中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
上清液	200	200
试剂五	300	300
试剂六	200	200
室温静置 20min（若仍浑浊，可以延长静置时间至 30min 或 1700rpm 离心 10min），取 200μL 于 96 孔板中，于 680nm 读取吸光值 A，ΔA=A 测定管-A 对照管（每个样本须做一个自身对照）。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标曲线准方程：y = 0.0154x + 0.0015，x 是标准品浓度（μg/mL），y 是ΔA。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、单位定义：每小时每克鲜土中产生 1μg 酪氨酸为一个酶活力单位。

土壤中性蛋白酶(S-NPT) (μg/h/g 鲜土)=(ΔA-0.0015)÷0.0154×V1÷W1÷T

=48.8×(ΔA-0.0015) ÷W1

3、单位定义：每小时每克干土中产生 1μg 酪氨酸为一个酶活力单位。

同等质量的鲜土（参与实际反应的鲜土质量）在 105℃烘干，即得相应的干土质量。

土壤中性蛋白酶(S-NPT) (μg/h/g 干土)=(ΔA-0.0015)÷0.0154×V1÷W2÷T

=48.8×(ΔA-0.0015) ÷W2

V1---培养步骤中总的反应体积，1500μL =1.5mL；

T---反应时间，2h；

W1---样本质量，以实际称取鲜土质量为准；

W2---相对应的干土质量。