

## 亮氨酸氨基肽酶（LAP）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYHF8-M48	亮氨酸氨基肽酶（LAP）	48T	微量法
AYHF8-M96	活性检测试剂盒	96T	

### 一、测定意义：

亮氨酸氨基肽酶（LAP）是一种膜结合蛋白分解酶，广泛分布于肝、胰、肾等组织中，能水解肽链 N 端并由亮氨酸与其他氨基酸形成肽键，参与组织蛋白和肽类的降解更新。亮氨酸氨基肽酶可作 为肝脏疾病初步检测的一项重要指标，特别是肝癌的鉴别诊断。

### 二、测定原理：

亮氨酸氨基肽酶可催化 L-亮氨酸对硝基苯胺生成对硝基苯胺，产物在 405 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征亮氨酸氨基肽酶的活性。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃避光保存
试剂一的配制：每支加 1.5mL 蒸馏水，混匀充分溶解，现用现配。			

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

- 1、组织：按照组织质量（g）:提取液体积（mL）为 1:5~10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。
- 2、细菌、细胞：按照细胞数量 10<sup>4</sup> 个：提取液体积（mL）500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

3、血清（浆）等液体：直接测定。

#### 测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 405nm，蒸馏水调零；
- 2、操作表（在96孔板中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	空白管
上清液（μL）	10	-
提取液（μL）	170	180
试剂一（μL）	20	20
充分混匀并立即开始计时，测定 30 s（总时间）时 405 nm 处吸光值，记为 A1 <sub>测定</sub> 和 A1 <sub>空白</sub> ；37℃准确反应 180 s（即 3min），测定 210 s（总时间）时 405 nm 处吸光值，记为 A2 <sub>测定</sub> 和 A2 <sub>空白</sub> ；计算 $\Delta A_{测定} = A2_{测定} - A1_{测定}$ ， $\Delta A_{空白} = A2_{空白} - A1_{空白}$ ， $\Delta A = \Delta A_{测定} - \Delta A_{空白}$ 。		
注：空白管只需测定 1-2 次。		

### 五、亮氨酸氨基肽酶（LAP）活性测定：

- 1、按血清（浆）体积计算

**单位定义：**每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol 的对硝基苯胺定义为一个酶活力单位。

**计算公式：**  $LAP (nmol/min/mL) = [\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{样} \div T = 1125.67 \times \Delta A$

- 2、按样本蛋白浓度计算

**单位定义：**每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 对硝基苯胺定义为一个酶活力单位。

**计算公式：**  $LAP (nmol/min/mg \text{ prot}) = [\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{样} \times C_{pr}) \div T = 1125.67 \times \Delta A \div C_{pr}$

- 3、按样本鲜重计算

**单位定义：**每 g 组织每分钟生成 1 nmol 对硝基苯胺定义为一个酶活力单位。

**计算公式：**  $LAP \text{ (nmol/min/g)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 1125.67 \times \Delta A \div W$

4、按照细菌或细胞数量计算

**单位定义：** 每  $10^4$  个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol 对硝基苯胺定义为一个酶活力单位。

**计算公式：**  $LAP \text{ (nmol/min/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 2.25 \times \Delta A$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， $2 \times 10^{-4}$  L； $\epsilon$ ：对硝基苯胺摩尔消光系数， $9.87 \times 10^3$  L/mol/cm； $d$ ：比色皿光径，1cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.01mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； $T$ ：反应时间，3min； $C_{\text{pr}}$ ：样本蛋白质浓度，mg/mL； $10^9$ ：单位换算系数， $1\text{mol}=10^9\text{nmol}$ ； $W$ ：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。

## 六、 注意事项：

- 1、如果  $\Delta A$  大于 0.5 时或  $A$  测定大于 1.5 时，建议将粗酶液使用提取液适当稀释后再进行测定；如果  $\Delta A$  小于 0.02，建议适当增加样本量或延长酶促反应时间（37℃ 反应时间可延长至 10-30 min）后再进行测定，计算公式注意修改；
- 2、准确在规定时间内完成吸光值测定，以确保实验结果的准确性和重复性；
- 3、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。

## 【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

## 【售后微信】



## 【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日