

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）活性检测试剂盒	48T	微量法
AYHF8-M96		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 10^4 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 (μ L)	10	-
提取液 (μ L)	170	180
试剂一 (μ L)	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 $A_{1\text{ 测定}}$ 和 $A_{1\text{ 空白}}$ ；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 $A_{2\text{ 测定}}$ 和 $A_{2\text{ 空白}}$ ；计算 $\Delta A_{\text{ 测定}} = A_{2\text{ 测定}} - A_{1\text{ 测定}}$, $\Delta A_{\text{ 空白}} = A_{2\text{ 空白}} - A_{1\text{ 空白}}$, $\Delta A = \Delta A_{\text{ 测定}} - \Delta A_{\text{ 空白}}$ 。
 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： $LAP \text{ (nmol/min/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 1125.67 \times \Delta A$

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

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 (nmol/min/g) = $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 1125.67 \times \Delta A \div W$

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 (nmol/min/ 10^4 cell) = $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 2.25 \times \Delta A$

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 2×10^{-4} L; ε : 对硝基苯胺摩尔消光系数, 9.87×10^3 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; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; 10^9 : 单位换算系数, 1mol= 10^9 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 ΔA 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 ΔA 小于 0.02, 建议适当增加样本量或延长酶促反应时间 (37°C 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、准确在规定时间点完成吸光值测定, 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