

亮氨酸氨基肽酶（LAP）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1916

产品规格：100T/96S

产品简介：

LAP是一种膜结合酶，广泛存在于肝、胆、胰等组织中，参与组织蛋白和某些肽类的降解更新。各类肝病患者因肝细胞损伤，血清LAP的活性均有不同程度的升高，LAP可以作为各类肝病的一项初步检测指标，特别是肝癌鉴别诊断的指标。

LAP分解L-亮氨酸对硝基苯胺生成对硝基苯胺，后者在405nm有最大吸收峰，通过测定吸光值升高速率来计算LAP活性。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体120mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入2.5mL丙酮溶解。

需自备的仪器和用品：

天平、低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、丙酮、匀浆器/研钵、冰、蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织：按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL试剂一）进行冰浴匀浆，然后，10000g，4℃，离心10min，取上清置于冰上待测。
2. 细胞或细菌：按照细胞数量（ 10^4 个）：试剂一体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL试剂一），冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；然后10000g，4℃，离心10min，取上清置于冰上待测。
3. 液体：直接检测。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，波长调至405nm，分光光度计蒸馏水调零。
2. 加样表：在微量玻璃比色皿/96孔板中分别加入下列试剂

试剂名称（ μ L）	测定管	对照管
试剂一	-	10
样本上清	10	-
试剂一	170	170
试剂二	20	20

在微量玻璃比色皿/96孔板中分别加入上述试剂，充分混匀后于405nm处测定30s时的吸光值A1，迅速置于37℃水浴3min（有控温功能的酶标仪可以将温度调至37℃），拿出迅速擦干测定210s时的吸光值A2，计算 $\Delta A_{测定管}=A2_{测定}-A1_{测定}$ ， $\Delta A_{空白管}=A2_{空白}$



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

-A1空白, $\Delta A = \Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}$ (空白管只需做1-2次)。

三、LAP酶活计算

A、按微量玻璃比色皿计算:

1. 按样本蛋白浓度计算:

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

$$\text{LAP (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 675.4 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按样本质量计算:

单位的定义: 每g组织每分钟生成1nmol对硝基苯胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{LAP (U/g 质量)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 675.4 \times \Delta A \div W$$

3. 按细胞数量计算:

单位的定义: 每1万个细胞每分钟生成1 nmol对硝基苯胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{LAP (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.35 \times \Delta A$$

4. 按液体体积计算:

单位的定义: 每mL血液每分钟生成1nmol的对硝基苯胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{LAP (U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 675.4 \times \Delta A$$

V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; 10^9 : 单位换算系数, 1mol= 10^9 nmol; d: 比色皿光径, 1cm; V样: 加入样本体积, 0.01mL; V样总: 加入试剂一体积, 1mL; T: 反应时间, 3min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细胞总数, 500万。

B、按96孔板计算:

将上述计算公式中的d-1cm改为d-0.6cm (96孔板光径) 进行计算即可。

注意事项:

1. ΔA 大于0.5时或者A值大于1.5时建议将样本上清用试剂一稀释后再进行测定。
2. 空白管的 ΔA 变化小于0.01。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com