亮氨酸氨基肽酶（LAP)活性检测试剂盒（分光光度计法）
（本试剂盒仅供科研使用）

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0625	亮氨酸氨基肽酶（LAP)活性检测试剂盒	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 100mL ×1 瓶	4℃
试剂一	粉剂 ×1 瓶：临用前加入 5mL 蒸馏水溶解。	4℃

一、产品说明

亮氨酸氨基肽酶（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。

二、自备材料

天平、低温离心机、可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、丙酮、匀浆器/研钵、冰、蒸馏水。

三、样品制备

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，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）； 10000g 4℃ 离心 10min，取上清置于冰上待测。

3、液体样本：直接检测。

四、操作步骤

正式测定前，必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 405 nm，蒸馏水调零。

2、操作表，（在 1mL 玻璃比色皿中分别加入下列试剂）：

试剂名称（μL）	测定管	空白管
试剂一		50
样本上清	50	
试剂一	850	850
试剂二	100	100
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，拿出迅速擦干测定 210s 时的吸光值 A2，计算ΔA 测定管= A2 测定-A1 测定，ΔA 空白管=A2 空白-A1 空白，ΔA=ΔA 测定管-ΔA 空白管（空白管只需做 1-2 次）。		

五、计算公式

1、按照组织蛋白浓度计算

单位定义：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。

LAP（U/mg prot）=[ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^9]÷(V 样×Cpr) ÷T =675.4×ΔA÷Cprr。

2、按照样本鲜重计算

单位定义：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。

LAP（U/g 鲜重）= [ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^9]÷(W× V 样÷V 样总) ÷T =675.4×ΔA÷W。

3、按照细胞或者细菌数量计算

酶活定义：每 1 万个细胞或细胞每分钟生成 1nmoL 的对硝基苯胺定义为一个酶活力单位。

LAP（U/10^4 ceLL）=[ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^9]÷(500×V 样÷V 样总) ÷T =1.35×ΔA。

4、按照液体体积计算

酶活定义：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。

LAP（U/mL）=[ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^9]÷V 样÷T=675.4×ΔA。

V 反总：反应体系总体积，1×10^{-3}L；ε：对硝基苯胺摩尔消光系数，9.87×10^3L/moL /cm；10^9：单位换算系数， 1moL=10^9nmoL；d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.05mL；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，需单独测定；W：样本质量，g；500：细胞总数，500 万。

六、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。

3、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。