

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

亮氨酸氨基肽酶测定试剂盒 Leucine Aminopeptidase Assay Kit

产品货号：BC00088

产品规格：50T/100T

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

✉ 邮箱（销售） order@enkilife.cn

✉ 邮箱（技术支持） tech@enkilife.cn

☎ 公司电话 027-87002838

🌐 网址 www.enkilife.cn



订阅微信公众号
获取更多技术
信息及前沿动态

保质期：请见试剂盒外包装标签。

技术支持：为了更好地给您提供服务，联系时请告知产品外包装标签上批号。

基本信息

产品中文名称	亮氨酸氨基肽酶测定试剂盒
产品英文名称	Leucine Aminopeptidase Assay Kit
检测方法	Colorimetric
样品类型	组织、血清、血浆
检测类型	Quantitative
检测仪器及波长	酶标仪 (405nm)

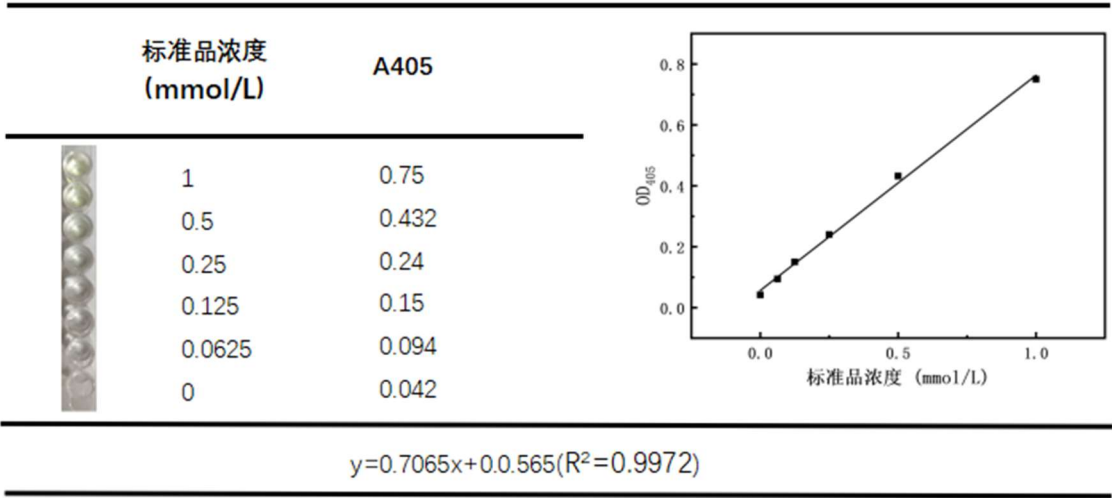
产品简介

亮氨酸氨基肽酶酶活检测试剂盒，本试剂盒适用于检测动物组织样本及血清(浆)等液体样本的亮氨酸氨基肽酶活性。亮氨酸氨基肽酶是一种蛋白水解酶，广泛分布于动物体各组织，肝含量尤其丰富。

检测原理

LAP 能催化底物 L-亮氨酸-4-硝基苯胺产生对硝基苯胺，后者在波长 405nm 处有最大吸收峰，通过测定体系吸光度的增加值，即可计算 LAP 的酶活。
本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 EnkiLife 生产的蛋白浓度测定试剂盒(BCA 法)(BC00006)。

下图展示了本试剂盒测定 LAP 的标准曲线：



产品组分

编号	产品名称	包装规格 (50T)	包装规格 (100T)	保存方式
试剂一	标准品	粉剂	粉剂	4℃，开瓶后 2-8℃保存。
试剂二	提取液	25 mL	50 mL	4℃，开瓶后 2-8℃保存。
试剂三	工作液	粉剂	粉剂	4℃，开瓶后 2-8℃避光保存。
耗材一	96 孔酶标板	1 板	1 板	RT
耗材二	96 孔覆膜	2 张	2 张	RT

保存条件

未拆封的试剂盒可在 4℃保存 12 个月，开瓶使用后可 4℃保存,其中试剂三需避光保存，如需长期存用，请溶解后置于-20℃冷冻保存，如条件允许请分装，避免反复冻融，六个月有效。

实验前准备

• 样品处理

1. 血清样本：可直接测定。
2. 组织样本：取 0.1g 新鲜组织块，加入 1ml 1×PBS 匀浆，10000xg，4℃离心 10min，取上清液待测。(1×PBS ， pH=7.4 需自备)。

• 试剂盒的准备工作

1. 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。
2. 标准品溶液的配制：每支标准品粉剂用 1mL 无水乙醇充分溶解得 50 mmol/L 试剂一标准品储备液。
3. 配制标准品溶液至 1mmol/L：按 50 mmol/L 对硝基苯胺标准品储备液：试剂二体积比为 1：49 的比例稀释 50 倍，即得 1mmol/L 标准品，临用前配制，于冰盒上待用，2-8℃避光可保存 7 天。
4. 工作液的配制：将试剂三用 2.5mL 无水乙醇充分溶解，临用前配制，于冰盒上待用，2-8℃

避光可保存 7 天。

5. 不同浓度标准品的稀释: 将 1mmol/L 标准品溶液用试剂二进行稀释, 采用对半稀释法, 稀释成不同浓度如 1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0 (空白孔) mmol/L。

操作流程

- 1. 标准孔: 取 20μL 不同浓度的标准品, 加入到对应的酶标板标准孔中; 测定孔: 取 10μL 待测样本, 加入到对应的酶标板测定孔。
- 2. 向步骤(1)中的标准孔中加入 180μL 提取液;向步骤(1)中的测定孔中加入 170μL 提取液。
- 3. 向测定孔中加入 20μL 工作液。
- 4. 酶标板上振板 5s, 于 405nm 处测量各孔 OD 值, 记为 A1; 继续 37℃孵育 5 分钟后, 测定各孔 OD 值, 记为 A2, , 则 $\Delta A=A_2-A_1$ 。

注: 试剂加入酶标孔时, 应触酶标板底加入; 加样要慢, 避免产生气泡 (气泡影响测定结果); 标准孔直接用 A1 制作标准曲线即可, 无需计算 ΔA 。

	标准孔	测定孔
不同浓度的标准品溶液(μL)	20	--
提取液(μL)	180	170
待测样本(μL)	--	10
工作液(μL)	--	20
酶标仪参数设置: 步进检测, 振板 5s, 波长 405nm。测定各孔 OD 值, 记为 A ₁ , 然后放入 37℃恒温箱中, 准确孵育 5min, 再次测定各孔 OD 值, 记为 A ₂ , 则 $\Delta A=A_2-A_1$ 。		

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

- 1、血清中 LAP 活力计算公式:

定义: 37℃条件下, 每升血清或血浆每分钟催化底物产生 1μmol 的对硝基苯胺所需要的酶

量为一个活力单位。

$$\text{LAP 酶活 (U/L)} = (\Delta A - b) \div a \times V_1 \div V_2 \div T \times 1000^* \times f$$

2、组织样本中 LAP 活力计算公式：

定义：37℃条件下，每克组织样本蛋白每分钟催化底物产生 1μmol 的对硝基苯胺所需要的酶量为一个活力单位。

$$\text{LAP 酶活 (U/gprot)} = (\Delta A - b) \div a \times V_1 \div V_2 \div T \times 1000^* \times f \div C_{pr}$$

注解：

y：标准孔 OD 值-空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

ΔA：波长 405nm 处测定孔的 OD 值变化(ΔA=A2-A1)

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

Cpr：待测样本的蛋白浓度(mg/mL)

V₁：加入试剂二工作液的体积：20μL

V₂：加入样本体积：10μL

1000*：1mmol=1000μmol

T：反应时间：5min

注意事项

1. 酶标仪最佳检测波长为 405 nm。
2. 配制标准品溶液时需注意完全溶解，当管内发现已无沉淀后，再放置 20min 在进行实验以确保标准品已完全溶解。
3. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。