

碱性磷酸酶 (AKP/ALP) 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
YFX0374	碱性磷酸酶 (AKP/ALP) 活性检测试剂盒	50 管/24 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体×1 瓶	4℃
试剂二	液体×1 瓶	4℃, 避光
试剂三	液体×1 瓶 (使用前置于 37℃ 水浴中预热 30min)	4℃, 避光
试剂四	液体×1 瓶 (变成蓝绿色不能使用)	4℃, 避光
标准品	液体 1mL×1 支, 2μmol/mL 酚标准液。	4℃

一、产品说明

AKP/ALP 是一种含锌的糖蛋白酶, 在碱性环境中可水解各种天然及人工合成的磷脂单酯化合物。AKP/ALP 广泛分布于人体各脏器中, 以肝脏为主。

在碱性环境中, AKP/ALP 催化磷酸苯二钠生成游离酚; 酚与 4-氨基安替比林和铁氰化钾反应红色亚醌衍生物, 在 510nm 有特征光吸收; 通过测定 510 nm 吸光度增加速率, 来计算 AKP 活性。

二、自备材料

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

三、样本准备:

- 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, 4℃、8000g 离心 10min, 取上清液待测。
- 2、血液: 可直接用于测定, 如果浓度高的话, 用提取液稀释。

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、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 510nm, 蒸馏水调零。
- 2、空白管: 取 EP 管, 加入 20μL 蒸馏水, 200μL 试剂二, 200μL 试剂三, 混匀后置于 37℃ 水浴中保温 15min; 加入试剂四 600μL, 混匀后于 510nm 测定吸光度, 记为 A 空白管。
- 3、标准管: 取 EP 管, 加入 20μL 标准品, 200μL 试剂二, 200μL 试剂三, 混匀后置于 37℃ 水浴中保温 15min; 加入试剂四 600μL, 混匀后于 510 nm 测定吸光度, 记为 A 标准管。
- 4、对照管: 取 EP 管, 加入 200μL 试剂二, 200μL 试剂三, 混匀后置于 37℃ 水浴中保温 15min; 加入试剂四 600μL, 混匀; 最后加入 20μL 上清液, 混匀后于 510 nm 测定吸光度, 记为 A 对照管。
- 5、测定管: 取 EP 管, 加入 20μL 上清液, 200μL 试剂二, 200μL 试剂三, 混匀后置于 37℃ 水浴中保温 15min; 加入试剂四 600μL, 混匀后于 510 nm 测定吸光度, 记为 A 测定管。

五、AKP/ALP 酶活的计算

1、按照蛋白浓度计算:

活性单位定义: 37℃中每毫克蛋白每分钟催化产生 1 μmol 酚定义为1个酶活单位。

$\text{AKP/ALP}(\mu\text{mol/min/mg prot})=[C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管}-A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管}-A \text{ 空白管}) \times V \text{ 反总}] \div (C_{\text{pr}} \times V \text{ 样}) \div T=6.8 \times (A \text{ 测定管}-A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管}-A \text{ 空白管}) \div C_{\text{pr}}$

2、按照样本鲜重计算:

活性单位定义: 37℃中每克组织每分钟催化产生 1 μmol 酚定义为1个酶活单位。

$\text{AKP/ALP}(\mu\text{mol/min/g})=[C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管}-A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管}-A \text{ 空白管}) \times V \text{ 反总}] \div (W \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T=6.8 \times (A \text{ 测定管}-A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管}-A \text{ 空白管}) \div W$

C 标准品: 2 $\mu\text{mol/mL}$; V 反总: 反应体系总体积 (mL), 1020 μL =1.02 mL; C_{pr}: 粗酶液蛋白质浓度 (mg/mL), 需要另外测定, 建议使用本公司生产的 BCA 蛋白质含量测定试剂盒; V 样: 加入反应体系中上清液体积 (mL), 0.020mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; W: 样本质量, g; T: 反应时间 (min), 15 min。

3、血液中 AKP/ALP 酶活的计算:

活性单位定义: 37℃中每毫升血液每分钟催化产生 1 μmol 酚定义为 1 个酶活单位。

$\text{AKP/ALP 活力}(\mu\text{mol/min/mL})=[C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管}-A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管}-A \text{ 空白管}) \times V \text{ 反总}] \div V \text{ 样} \times V \text{ 样总} \div T=6.8 \times (A \text{ 测定管}-A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管}-A \text{ 空白管})$

C 标准品: 2 $\mu\text{mol/mL}$; V 反总: 反应体系总体积 (mL), 1020 μL =1.02 mL; V 样: 加入反应体系中上清液体积 (mL), 0.020mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间 (min), 15 min。

六、注意事项

- 1、空白管和标准管只需测定一次。
- 2、试剂二、试剂三和试剂四均需避光保存。
- 3、试剂四变蓝绿色后不能再使用。
- 4、加入试剂四后必须立即混匀, 否则显色不完全。