

碱性磷酸酶 (AKP/ALP) 活性检测试剂盒 (微量法) (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
YFX0375	碱性磷酸酶 (AKP/ALP) 活性检测试剂盒	100 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 60mL ×1 瓶	4℃
试剂一	液体 5mL ×1 瓶	4℃, 避光
试剂二	液体 5mL ×1 瓶 (使用前置于 37℃ 水浴中预热 30 min 以上)	4℃, 避光
试剂三	液体 15mL ×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/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、冰和蒸馏水。

三、样本准备:

- 1、称取约 0.1g 组织, 加提取液 1mL 充分研磨, 4℃、10000rpm 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、操作表

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管	标准管
蒸馏水			4	
2μmol/mL 标准品				4
上清液	4			
试剂一	40	40	40	40
试剂二	40	40	40	40
混匀后置于 37℃ 水浴中保温 15min。				

试剂三	120	120	120	120
上清液		4		
混匀后于 510 nm 测定吸光度, 分别记为 A 测定管、A 对照管、A 空白管、A 标准管。				

五、ACP 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 酚为一个酶活力单位。

AKP/ALP (U/mg prot) = $[C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times V \text{ 样}] \div (Cpr \times V \text{ 样}) \div T = 0.133 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div Cpr$ 。

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 酚为一个酶活力单位。

AKP/ALP (U/g 鲜重) = $[C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times V \text{ 样}] \div (W \div V \text{ 提取} \times V \text{ 样}) \div T = 0.133 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W$ 。

3、血液中 ACP 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 酚为一个酶活力单位。

AKP/ALP (U/mL) = $[C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times V \text{ 样}] \div V \text{ 样} \div T = 0.133 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})$ 。

C 标准品: 2 μmol/mL; V 反总: 反应体系总体积 (mL), 204 μL=0.204mL; V 样: 加入反应体系中上清液体积 (mL), 0.004mL; T: 反应时间 (min), 15 min; V 提取: 加入提取液体积, 1mL; W: 样本鲜重, g; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL。。

六、注意事项

- 1、试剂一、试剂二和试剂三均需避光保存。
- 2、试剂三变蓝绿色后不能再使用。
- 3、加入试剂三后必须立即混匀, 否则显色不完全。