

## 组织及血液碱性磷酸酶(AKP/ALP)活性检测试剂盒（微量法）

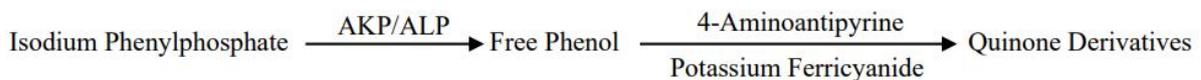
产品货号：BA2286

产品规格：100T/48S

### 产品说明：

AKP/ALP（Alkaline Phosphatase）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510nm吸光度增加速率，来计算AKP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
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体5mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体5mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体15mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1mL×1支	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 标准品：10 μmol/mL酚标准液，临用前蒸馏水稀释至2.5 μmol/mL备用（可以吸取25 μL 10 μmol/mL酚标准液和75 μL蒸馏水混合备用），稀释后的标准液2-8℃保存一周。

### 需自备的仪器和用品：

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、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

### 测定步骤：

#### 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. 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，或者适当稀释后用于测定。

#### 二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长到510nm，分光光度计蒸馏水调零。
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	-
标准品	-	-	-	4
上清液	4	-	-	-



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

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510nm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。空白管和标准管只需测定1-2次。				

### 三、AKP/ALP活性计算

#### 1. 按样本蛋白浓度计算

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。

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

$$= 0.167 \times (\text{A测定管} - \text{A对照管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \div \text{Cpr}$$

#### 2. 按样本质量计算

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。

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

$$= 0.167 \times (\text{A测定管} - \text{A对照管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \div \text{W}$$

#### 3. 按液体体积计算

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。

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

$$= 0.167 \times (\text{A测定管} - \text{A对照管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})$$

C标准品：标准品浓度，2.5 μmol/mL；V样：加入反应体系中上清液体积，0.004 mL；T：反应时间，15 min；

V提取：加入提取液体积，1 mL；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL。

#### 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。

#### 实验实例：

1. 取0.1g小鼠胰腺加入1mL提取液进行匀浆研磨，取上清后按照测定步骤操作，测得计算A测定管=0.169、A对照管=0.047、A空白管=0.049、A标准管=0.449，按样本质量计算酶活：

$$\text{AKP/ALP 酶活 (U/g质量)} = 0.167 \times (\text{A测定管} - \text{A对照管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \div \text{W}$$

$$= 0.167 \times (0.169 - 0.047) \div (0.449 - 0.049) \div 0.1 = 0.509 \text{ U/g 质量。}$$

2. 取兔血清后按照测定步骤操作，测得计算A测定管=0.147、A对照管=0.047、A空白管=0.049、A标准管=0.449，按血液体积计算酶活：

$$\text{AKP/ALP 酶活 (U/mL)} = 0.167 \times (\text{A测定管} - \text{A对照管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})$$

$$= 0.167 \times (0.147 - 0.047) \div (0.449 - 0.049) = 0.0418 \text{ U/mL}$$



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