

组织及血液碱性磷酸酶(AKP/ALP)活性检测试剂盒

(可见分光光度法)

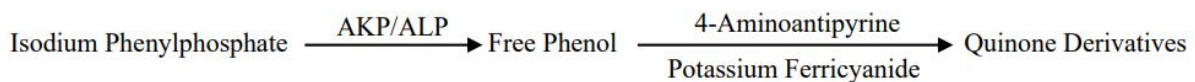
产品货号: BA2285

产品规格: 50T/24S

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30mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体10mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体10mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体30mL×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、台式离心机、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、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. 分光光度计预热30min以上, 调节波长到510nm, 蒸馏水调零。
2. 操作表:



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

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管	标准管
蒸馏水	-	-	20	-
标准品	-	-	-	20
上清液	20	-	-	-
试剂一	200	200	200	200
试剂二	200	200	200	200
混匀后置于37℃水浴中保温15min				
试剂三	600	600	600	600
上清液	-	20	-	-
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。

$$\text{AKP/ALP 酶活(U/mg prot)} = \frac{[C \text{标准品} \times (A \text{测定管} - A \text{对照管}) \div (A \text{标准管} - A \text{空白管}) \times V \text{样}] \div (C \text{pr} \times V \text{样}) \div T}{= 0.167 \times (A \text{测定管} - A \text{对照管}) \div (A \text{标准管} - A \text{空白管}) \div C \text{pr}}$$

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。

$$\text{AKP/ALP 酶活(U/g 质量)} = \frac{[C \text{标准品} \times (A \text{测定管} - A \text{对照管}) \div (A \text{标准管} - A \text{空白管}) \times V \text{样}] \div (W \div V \text{提取} \times V \text{样}) \div T}{= 0.167 \times (A \text{测定管} - A \text{对照管}) \div (A \text{标准管} - A \text{空白管}) \div W}$$

3. 按血液体积计算

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。

$$\text{AKP/ALP 酶活(U/mL)} = \frac{[C \text{标准品} \times (A \text{测定管} - A \text{对照管}) \div (A \text{标准管} - A \text{空白管}) \times V \text{样}] \div V \text{样} \div T}{= 0.167 \times (A \text{测定管} - A \text{对照管}) \div (A \text{标准管} - A \text{空白管})}$$

C标准品：标准品浓度，2.5 μmol/mL；V样：加入反应体系中上清液体积，0.02 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0.1 g小鼠胰腺加入1 mL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=0.324、A对照管=0.037、A空白管=0.022、A标准管=0.677，按样本质量计算酶活：

$$\text{AKP/ALP 酶活 (U/g质量)} = 0.167 \times (A \text{测定管} - A \text{对照管}) \div (A \text{标准管} - A \text{空白管}) \div W \\ = 0.732 \text{ U/g 质量。}$$

2. 取兔血清后按照测定步骤操作，测得计算A测定管=0.190、A对照管=0.015、A空白管=0.022、A标准管=0.677，按血液体积计算酶活：

$$\text{AKP/ALP 酶活 (U/mL)} = 0.167 \times (A \text{测定管} - A \text{对照管}) \div (A \text{标准管} - A \text{空白管}) \\ = 0.0446 \text{ U/mL}$$



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