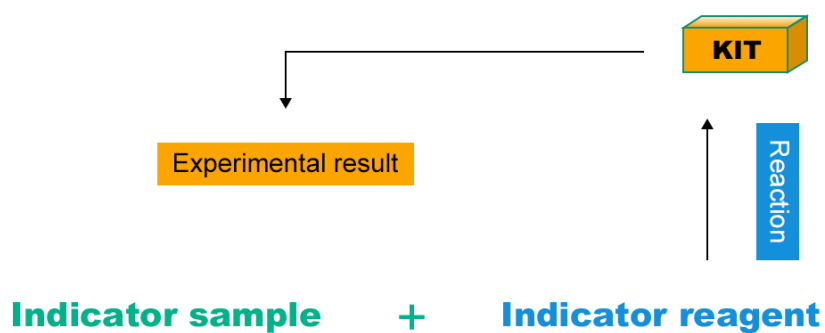


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0386

Size: 100T/48S

碱性磷酸酶 (AKP/ALP) 检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

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。

二、测定原理:

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。

三、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 (ZC-1036: UV板)、冰和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 5mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂三	液体 15mL×1 瓶	4℃避光保存	变成蓝绿色不能使用
标准品	液体 1mL×1 支	4℃保存	2 μmol/mL 酚标准液

五、操作步骤：

● 粗酶液提取：

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。血液可直接用于测定，或者适当稀释后用于测定。

● 测定步骤：

1. 分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长到 510 nm，蒸馏水调零。

2. 试剂二置于 37℃水浴中预热 30 min 以上。

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管	标准管
蒸馏水	—	—	4	—
2 μmol/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 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。				

六、AKP/ALP 活性计算：

1. 按蛋白浓度计算

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) = $[C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times V \text{ 样}] \div (C_{pr} \times V \text{ 样}) \div T = 0.133 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div C_{pr}$

2. 按样本鲜重计算

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。

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

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。

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

C 标准品：2 $\mu\text{mol/mL}$; 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)，15min; 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。

七、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。