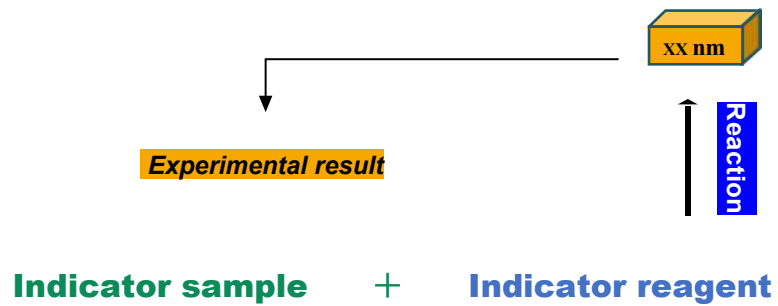


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

碱性磷酸酶（AKP/ALP）活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：正式测定之前选择预期差异大的样本做预测定

产品内容：

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

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。

试验中所需的仪器和试剂：

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。

操作步骤：

粗酶液提取：

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. 细菌或细胞：按照细菌或细胞数量 (10⁴个)：试剂一体积 (mL) 为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 试剂一），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；然后 8000g，4℃，离心 10min，取上清置于冰上待测。

3. 血液可直接测定，或者适当稀释后测定。

二、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°C 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°C 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。				

三、AKP/ALP 活性计算：

1. 按蛋白浓度计算

活性单位定义：37°C 中每毫克蛋白每分钟催化产生 1 μmol 酚为一个酶活力单位。

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

$$= 0.133 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{Cpr}$$

2. 按样本鲜重计算

活性单位定义：37°C 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°C 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 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。

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。