

碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, AKP/ALP) 活性测定试剂盒

分光光度法 50 管/24 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

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。

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 510 nm 吸光度增加速率, 来计算 AKP 活性。

组成:

产品名称	ES007-50T/24S	Storage
试剂一: 液体	1 瓶	4°C
试剂二: 液体	1 瓶	4°C避光
试剂三: 液体	1 瓶	4°C避光
试剂四: 液体	1 瓶	4°C避光
标准品: 液体	1 支	4°C
说明书	一份	

试剂四: 液体×1 瓶, 4°C避光保存, 未变成蓝绿色之前均可使用。

标准品: 液体×1 支 (EP 管中), 2 μ mol/ml 酚标准液, 4°C保存。

自备仪器和用品:

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1ml 玻璃比色皿和蒸馏水。

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°C、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 (10^4 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°C, 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。

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min, 调节波长到 510 nm, 蒸馏水调零。
 2. 试剂三置于 37°C 水浴中预热 30 min。
 3. **空白管**: 取 EP 管, 加入 **20 μ l 蒸馏水**, 200 μ l 试剂二, 200 μ l 试剂三, 混匀后置于 37°C 水浴中保温 15min; 加入试剂四 600 μ l, 混匀后于 510 nm 测定吸光度, 记为 A 空白管。
 4. **标准管**: 取 EP 管, 加入 **20 μ l 标准品**, 200 μ l 试剂二, 200 μ l 试剂三, 混匀后置于 37°C 水浴中保温 15min; 加入试剂四 600 μ l, 混匀后于 510 nm 测定吸光度, 记为 A 标准管。
 5. **对照管**: 取 EP 管, 加入 **20 μ l 上清液**, 200 μ l 蒸馏水, 200 μ l 试剂三, 混匀后置于 37°C 水浴中保温 15min; 加入试剂四 600 μ l, 混匀后于 510 nm 测定吸光度, 记为 A 测定管。
 6. **测定管**: 取 EP 管, 加入 **20 μ l 上清液**, 200 μ l 试剂二, 200 μ l 试剂三, 混匀后置于 37°C 水浴中保温 15min; 加入试剂四 600 μ l, 混匀后于 510 nm 测定吸光度, 记为 A 测定管。
- 注意: 空白管和标准管只需测定一次。每个测定管设一个对照管。**

AKP/ALP 活性计算:

1. 血液中 AKP/ALP 活力计算

活性单位定义: 37°C 中每毫升血液每分钟催化产生 1 μ mol 酚定义为 1 个酶活单位。

AKP/ALP 活力(μ mol/min/ml) = [C 标准品 \times (A 测定管 - A 对照管) \div (A 标准管 - A 空白管) \times V 反总] \div V 样 \div T = 6.8 \times (A 测定管 - A 对照管) \div (A 标准管 - A 空白管)

2. 组织、细菌或细胞中 AKP/ALP 活性计算

(1) 按照蛋白浓度计算

活性单位定义: 37°C 中每毫克蛋白每分钟催化产生 1 μ mol 酚定义为 1 个酶活单位。

AKP/ALP (μ mol/min/mg prot) = [C 标准品 \times (A 测定管 - A 对照管) \div (A 标准管 - A 空白管) \times V 反总] \div (Cpr \times V 样) \div T = 6.8 \times (A 测定管 - A 对照管) \div (A 标准管 - A 空白管) \div Cpr

(2) 按照样本质量计算

活性单位定义: 37°C 中每克组织每分钟催化产生 1 μ mol 酚定义为 1 个酶活单位。

AKP/ALP (μ mol/min/g 鲜重) = [C 标准品 \times (A 测定管 - A 对照管) \div (A 标准管 - A 空白管) \times V 反总] \div (W \times V 样 \div V 样总) \div T = 6.8 \times (A 测定管 - A 对照管) \div (A 标准管 - A 空白管) \div W

(3) 按照细菌或细胞数量计算

活性单位定义: 37°C 中每 10⁴ 个细菌或细胞每分钟催化产生 1 μ mol 酚定义为 1 个酶活单位。AKP/ALP (μ mol/min/10⁴ cell) = [C 标准品 \times (A 测定管 - A 对照管) \div (A 标准管 - A 空白管) \times V 反总] \div (细胞数量 \times V 样 \div V 样总) \div T = 6.8 \times (A 测定管 - A 对照管) \div (A 标准管 - A 空白管) \div 细胞数量

C 标准品: 2 μ mol/ml; V 反总: 反应体系总体积 (ml), 1020 μ l=1.02 ml; V 样: 加入反应体系中上清液体积 (ml), 0.020ml; V 样总: 加入提取液体积, 1ml; T: 反应时间 (min), 15 min。

注意事项:

1. 试剂二、试剂三和试剂四均需避光保存。
2. 试剂四变蓝绿色后不能再使用。
3. 加入试剂四后必须立即混匀, 否则显色不完全。

