

## 碱性磷酸酶（AKP/ALP）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1096

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：动物组织、细胞、血清（浆）、尿液

### 产品简介

碱性磷酸酶（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。本试剂盒提供了一种简单、快速的 AKP/ALP 检测方法，其检测原理是在碱性环境中，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生成红色亚醌衍生物，在 510nm 有特征光吸收；通过测定 510nm 吸光度增加速率，来计算 AKP/ALP 活性。

### 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	2.5mL	5mL	4℃避光保存
试剂二	2.5mL	5mL	4℃避光保存
试剂三	7.5mL	15mL	4℃避光保存
标准品（2 μmol/mL 酚标准液）	0.5mL	0.5mL	4℃保存

### 自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 510nm 处的吸光度）

恒温箱、制冰机、低温离心机

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

### 试剂准备

**注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。**

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

标准品：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

### 样本制备

1. 组织样本：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，10,000 rpm，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。
2. 细胞：收集 500 万细胞到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 10,000 rpm，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。
3. 血清（浆）：血浆和血清可以直接用于测定。血浆制备时不能用 EDTA 和柠檬酸盐，可用其它抗凝剂。
4. 尿液：直接测定。

## 产品说明书

**注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存1个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用BCA法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。**

### 实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热30min以上，调节波长到510nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 按照下表进行加样及反应：

	空白孔 (μL)	标准孔 (μL)	对照孔 (μL)	测定孔 (μL)
去离子水	4	0	0	0
标准品	0	4	0	0
样本	0	0	0	4
试剂一	40	40	40	40
试剂二	40	40	40	40

混匀后置于37℃孵育15min

试剂三	120	120	120	120
样本	0	0	4	0

混匀后于510nm测定吸光度，其中标准和空白只需测定一次，每个样本均需设置对照，各孔的吸光度分别记为 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ ，计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 、 $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

**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 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于0.005可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于1.0，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。**

### 结果计算

#### 1. 按蛋白浓度计算

活性单位定义：37℃中每毫克蛋白在反应体系中每分钟催化产生1μmol酚为一个酶活力单位。

$$\text{AKP/ALP (U/mg prot)} = (C_{\text{标准品}} \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \times V_{\text{反应}}) \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 6.8 \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \div C_{\text{pr}}$$

#### 2. 按样本鲜重计算

活性单位定义：37℃中每克组织在反应体系中每分钟催化产生1μmol酚为一个酶活力单位。

$$\text{AKP/ALP (U/g 鲜重)} = (C_{\text{标准品}} \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \times V_{\text{反应}}) \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 6.8 \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \div W$$

#### 3. 按液体体积计算

活性单位定义：37℃中每毫升血液或尿液在反应体系中每分钟催化产生1μmol酚为一个酶活力单位。

$$\text{AKP/ALP (U/mL)} = (C_{\text{标准品}} \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \times V_{\text{反应}}) \div V_{\text{样}} \div T = 6.8 \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}$$

#### 4. 按细胞数目计算

活性单位的定义：37℃中每1万个细胞在反应体系中每分钟催化产生1μmol酚为一个酶活力单位。

$$\text{AKP/ALP (U/10}^4 \text{ cells)} = (C_{\text{标准品}} \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \times V_{\text{反应}}) \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div T = 6.8 \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \div 500$$

$C_{\text{标准品}}$ ：标准品的浓度，2μmol/mL； $V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.204mL； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中上清液体积，0.004mL； $T$ ：反应时间，15min； $V_{\text{提取}}$ ：加入提取液体积，1mL； $W$ ：样本鲜重，g； $C_{\text{pr}}$ ：上清液蛋白质浓度，mg/mL；500：细胞数量，500万。

### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

## 产品说明书

PMK1094 乙酰胆碱酯酶 (AChE) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1000 NAD 激酶 (NADK) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1120 己糖激酶 (HK) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1121 丙酮酸激酶 (PK) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

