



CheKine™ 组织及血液碱性磷酸酶 (AKP/ALP) 活性检测试剂盒 (微量法)

Cat #: KTB1700

Size: 48 T/96 T

	组织及血液碱性磷酸酶 (AKP/ALP) 活性检测试剂盒 (微量法)		
REF	货号: KTB1700	LOT	批号: 见产品标签
	适用样本: 血清 (浆)、动物组织、尿液		
	保质期: 4°C, 避光保存 12 个月		

原理

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。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 510 nm 有特征光吸收; 通过测定 510 nm 吸光度增加速率, 来计算 AKP/ALP 活性。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	50 mL	100 mL	4°C
Chromogen A	2.5 mL	5 mL	4°C, 避光保存
Chromogen B	2.5 mL	5 mL	4°C, 避光保存
Chromogen C	7.5 mL	15 mL	4°C, 避光保存
Standard	0.5 mL	0.5 mL	4°C

自备耗材

- 酶标仪或可见分光光度计 (能测 510 nm 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

Extraction Buffer: 即用型；使用前，平衡到室温；4°C保存。

Chromogen A: 即用型；使用前，平衡到室温；4°C避光保存。

Chromogen B: 即用型；使用前，平衡到室温；4°C避光保存。

Chromogen C: 即用型；使用前，平衡到室温；4°C避光保存。

Standard: 即用型；使用前，平衡到室温；4°C保存。

样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80°C保存1个月。

1. 组织样本：称取约0.1g样本，加入1mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，10,000 rpm，4°C离心10 min，取上清液，置冰上待测。
2. 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。
3. 尿液：直接测定。

注意：如需测定蛋白浓度，推荐使用Abbkine货号：KTD3001的蛋白质定量试剂盒（BCA法）进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

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

试剂	空白孔 (μL)	标准孔 (μL)	对照孔 (μL)	测定孔 (μL)
去离子水	4	0	0	0
Standard	0	4	0	0
Sample	0	0	0	4
Chromogen A	40	40	40	40
Chromogen B	40	40	40	40

混匀后置于37°C孵育15 min

Chromogen C	120	120	120	120
Sample	0	0	4	0

混匀后于510 nm测定吸光度，其中标准和空白只需做一个，每个样本均需设置对照，各孔的吸光度分别记为A_{空白}，A_{标准}，A_{对照}，A_{测定}。

结果计算

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

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。

$$AKP/ALP (U/mg \text{ prot}) = [C_{\text{标准品}} \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times V_{\text{样}}] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.133 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div C_{\text{pr}}$$

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。

$$AKP/ALP (U/g \text{ 鲜重}) = [C_{\text{标准品}} \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times V_{\text{样}}] \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.133 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W$$

3. 按液体体积计算

活性单位定义：37°C中每毫升血液或尿液每分钟催化产生1 μmol 酚为一个酶活力单位。

$$AKP/ALP (U/mL) = [C_{\text{标准品}} \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times V_{\text{样}}] \div V_{\text{样}} \div T = 0.133 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}})$$

C_{标准品}：标准品的浓度，2 μmol/mL；V_样：加入反应体系中上清液体积，0.004 mL；T：反应时间，15 min；V_{提取}：加入提取液体积，

1 mL; W: 样本鲜重, g; Cpr: 上清液蛋白质浓度, mg/mL。

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1070	CheKine™ 黄嘌呤氧化酶 (XO) 活性分析试剂盒 (微量法)
KTB1040	CheKine™ 过氧化氢酶 (CAT) 活性分析试剂盒 (微量法)
KTB1110	CheKine™ 乳酸脱氢酶 (LDH) 活性检测试剂盒 (微量法)

免责声明

本产品仅供科学研究使用, 不适用于临床诊断。