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/24 S 96 T/48 S

	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℃，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	60 mL	120 mL	4℃
Chromogen A	2.5 mL	5 mL	4℃，避光保存
Chromogen B	2.5 mL	5 mL	4℃，避光保存
Chromogen C	7.5 mL	15 mL	4℃，避光保存
Standard	0.5 mL	0.5 mL	4℃

注意：正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或可见光分光光度计（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

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

Extraction Buffer：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

Chromogen A：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

Chromogen B：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

Chromogen C：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

Standard：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

注意：Chromogen A 和 Chromogen C 有毒，Standard 有刺激性气味，建议在通风橱进行实验。

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℃保存 1 个月。

1. 组织样本：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，10,000 rpm，4℃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. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 510 nm，可见光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℃孵育 15 min				
Chromogen C	120	120	120	120
Sample	0	0	0	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℃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)=$[C_{标准品}\times(A_{测定}-A_{对照})\div(A_{标准}-A_{空白})\times V_{样}]\div(Cpr\times V_{样})\div T$**$=0.133\times(A_{测定}-A_{对照})\div(A_{标准}-A_{空白})\div Cpr$**

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。

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

3. 按液体体积计算

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

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

AKP/ALP (U/mL)=[$C_{标准品}$×($A_{测定}$-$A_{对照}$)÷($A_{标准}$-$A_{空白}$)×$V_{样}$]÷$V_{样}$÷T**=0.133×($A_{测定}$-$A_{对照}$)÷($A_{标准}$-$A_{空白}$)**

$C_{标准品}$：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。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.