

## 组织及血液碱性磷酸酶（AKP/ALP）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHD4-M48	组织及血液碱性磷酸酶（AKP/ALP）试剂盒	48T	微量法

### 产品说明：

AKP/ALP（Alkaline Phosphatase）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510nm吸光度增加速率，来计算AKP活性。

### 试剂组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 15 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

### 溶液的配制：

- 1、标准品：10 μmol/mL 酚标准液，临用前蒸馏水稀释至2.5μmol/mL 备用（可以吸取25μL 10 μmol/mL 酚标准液和75μL 蒸馏水混合备用），稀释后的标准液2-8℃保存一周。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理

- 1、称取约0.1g 组织，加提取液 1mL 充分研磨，4℃、10000rpm 离心 10min，取上清液待测。
- 2、血液可直接用于测定，或者适当稀释后用于测定。

#### 二、操作步骤

- 1、分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长到510nm，分光光度计蒸馏水调零。
- 2、操作表：

试剂名称（μL）	测定管	对照管	空白管	标准管
蒸馏水	-	-	4	-

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℃水浴中保温15min				
试剂三	120	120	120	120
上清液	-	4	-	-
混匀后于510nm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。空白管和标准管只需测定1-2次				

### 三、AKP/ALP活性计算

#### 1、按样本蛋白浓度计算

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

$$\text{AKP/ALP 酶活(U/mg prot)} = \frac{[\text{C标准品} \times (\text{A测定管} - \text{A对照管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \times \text{V样}] \div (\text{Cpr} \times \text{V样}) \div \text{T}}{0.167 \times (\text{A测定管} - \text{A对照管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \div \text{Cpr}}$$

#### 2、按样本质量计算

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。

$$\text{AKP/ALP 酶活(U/g 质量)} = \frac{[\text{C标准品} \times (\text{A测定管} - \text{A对照管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \times \text{V样}] \div (\text{W} \div \text{V提取} \times \text{V样}) \div \text{T}}{0.167 \times (\text{A测定管} - \text{A对照管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \div \text{W}}$$

#### 3、按液体体积计算

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

$$\text{AKP/ALP 酶活(U/mL)} = \frac{[\text{C标准品} \times (\text{A测定管} - \text{A对照管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \times \text{V样}] \div \text{V样} \div \text{T}}{0.167 \times (\text{A测定管} - \text{A对照管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})}$$

C标准品：标准品浓度，2.5μmol/mL；V样：加入反应体系中上清液体积，0.004mL；T：反应时间，15min；V提取：加入提取液体积，1mL；W：样本质量，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。