碱性磷酸酶（AKP/ALP）活性检测试剂盒说明书

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。
2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。
3. 本试剂盒仅用于科研。
4. 试剂四变蓝绿色后不能再使用。
5. 加入试剂四后必须立即混匀，否则显色不完全。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	120 mL×1	4℃	
试剂一	5 mL×1	4℃避光	
试剂二	5 mL×1	4℃避光	
试剂三	15 mL×1	4℃避光	
标准品	1 mL×1	4℃	2 μmol/mL 酚标准液

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1. 组织：按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆，然后，10000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

2. 细胞/细菌：按照细胞/细菌数量（10^4个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞/细菌加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞/细菌（功率 200 w，超声 3 秒，间隔 10 秒，重复 30 次）；然后 10000g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

3. 血清、血浆、果汁等液体样本：直接测定。。

五、测定步骤：

1.酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 510 nm 处。

2.在 96 孔板中依次加入：

	测定管	对照管	标准管	空白管
样本（μL）	4	-	-	-
标准品（μL）	-	-	4	-
蒸馏水（μL）	-	-	-	4
试剂一（μL）	40	40	40	40
试剂二（μL）	40	40	40	40
混匀后置于 37℃培养箱中保温 15 min。				
试剂三（μL）	120	120	120	120
样本（μL）	-	4	-	-
充分混匀后，测定 A510，记 A 测定、A 对照、A 标准、A 空白，ΔA 测定=A 测定-A 对照，ΔA 标准=A 标准-A 空白。每个测定管需设置一个对照管，标准管和空白管只需测定 2~3 次。				

六、计算：

1. 按照样本质量计算：

单位定义：37℃中每克组织每分钟催化产生 1 μmol 酚定义为 1 个酶活单位。

AKP/ALP（μmol/min/g 鲜重）=[C 标准品×ΔA 测定÷ΔA 标准×V 反总]÷（W×V 样÷V 样总）÷T=6.8×ΔA 测定÷ΔA 标准÷W

2. 按照蛋白质浓度计算（需另测蛋白浓度）：

单位定义：37℃中每毫克蛋白每分钟催化产生 1 μmol 酚定义为 1 个酶活单位。

AKP/ALP（μmol/min/mg prot）=[C 标准品×ΔA 测定÷ΔA 标准×V 反总]÷（Cpr×V 样总）÷T=6.8×ΔA 测定÷ΔA 标准÷Cpr

3. 按细胞/细菌密度计算：

单位定义：37℃中每 10^4 个细胞/细菌每分钟催化产生 1 μmol 酚定义为 1 个酶活单位。

AKP/ALP （μmol/min/10^4cell）=[C 标准品×ΔA 测定÷ΔA 标准×V 反总]÷（N×V 样÷V 样总）÷T=6.8×ΔA 测定÷ΔA 标准÷N

4. 按液体体积计算：

活性单位定义：37℃中每毫升样本每分钟催化产生 1 μmol 酚定义为 1 个酶活单

位。

AKP/ALP（μmol/min /mL）= [C 标准品×ΔA 测定÷ΔA 标准×V 反总] ÷V 样÷T=6.8×ΔA 测定÷ΔA 标准

C 标准品：2 μmol/mL；V 反总：反应体系总体积（mL），205 μL=0.205 mL； Cpr：粗酶液蛋白质浓度（mg/mL）；W：样品质量；V 样：加入反应体系中上清液体积（mL），0.004 mL；V 样总：提取液体积，1 mL；T：反应时间（min），15 min；N：细胞/细菌数量（万个）。

七、产品简介

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 广泛分布于生物体各脏器中，以肝脏为主。