

碱性磷酸酶 (AKP) 检测试剂盒

(货号: BC046 微板法)

一、测定意义及原理

碱性磷酸酶分解磷酸苯二钠，产生游离酚和磷酸，酚在碱性溶液中与 4-氨基安替吡啉作用经铁氰化钾氧化生成红色醌衍生物，根据红色深浅可以测定酶活力的高低。

二、试剂组成及配制 (96T/100Assay)

组分	96T/100Assay	储存
试剂一	6ml*1 瓶	4°C 冷藏保存 3 个月
试剂二	6ml*1 瓶	4°C 避光保存 3 个月
试剂三	18ml*1 瓶	4°C 避光保存 3 个月
试剂四	0.5ml*1 瓶	4°C 避光保存 3 个月
0.1mg/ml 酚标准工作液配制: 取试剂四: 双蒸水=1: 10 稀释, 现用现配		

三、操作过程:

(一) 血清 (浆) 中 AKP 的测定:

操作表:

	空白管	标准管	测定管
双蒸水 (μl)	5		
0.1mg/ml 酚标准工作液 (μl)		5	
血清 (μl)			5
缓冲液 (μl)	50	50	50
基质液 (μl)	50	50	50
充分混匀, 37°C 水浴 15 分钟			
显色剂 (μl)	150	150	150

轻轻振摇孔板混匀, 波长 520nm, 酶标仪测定各孔吸光度值。

注意: 鸡血清 (浆) 中 AKP 活力较高, 一般需要用生理盐水 5 倍或 10 倍稀释后待测

单位定义:

100ml 血清在 37°C 与基质作用 15 分钟产生 1mg 酚为 1 个金氏单位。

计算公式: (适用于细胞培养液、血清、血浆等液体样本的计算)

$$\text{血清中 AKP 活力 (金氏单位/100ml)} = \frac{\text{测定 OD 值} - \text{空白 OD 值}}{\text{标准 OD 值} - \text{空白 OD 值}} \times \frac{\text{标准品浓度 (0.1mg/ml)}}{\text{样本测定前稀释倍数}} \times 100\text{ml}$$



(二) 组织匀浆中 AKP 的测定:

1、操作表:

	空白管	标准管	测定管
双蒸水(μl)	5		
0.1mg/ml 酚标准工作液(μl)		5	
待测样本(μl)			5
缓冲液(μl)	50	50	50
基质液(μl)	50	50	50
充分混匀, 37°C水溶 15 分钟			
显色剂(μl)	150	150	150

立即混匀, 波长 520nm, 酶标仪测定各孔吸光度值。

2、单位定义: 每克组织蛋白在 37°C 与基质作用 15 分钟产生 1mg 酚为 1 个金氏单位。

3、计算公式: (适用于细胞、组织等相关样本的计算)

$$\text{细胞、组织中AKP活力} \left(\frac{\text{金氏单位}}{\text{gprot}} \right) = \frac{\text{测定OD值} - \text{空白OD值}}{\text{标准OD值} - \text{空白OD值}} \times \frac{\text{标准品浓度}}{(0.1\text{mg/ml})} \div \frac{\text{待测样本蛋白浓度}}{(\text{gprot/ml})}$$



试剂盒标准曲线的制备

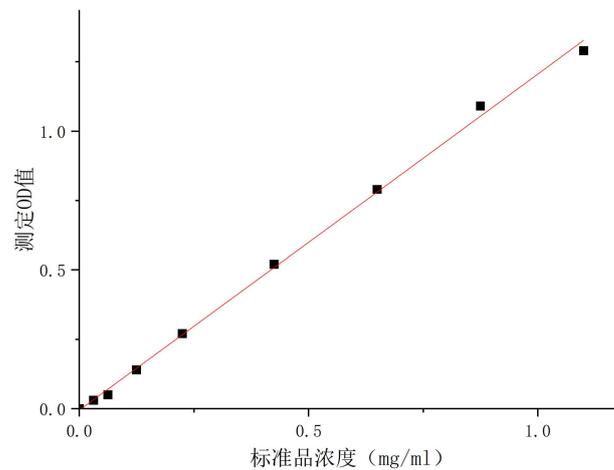
1, 操作表:

管号	0	1	2	3	4	5	6	7	8
1.1mg/ml 酚标准液(ml)	0	0.001	0.0025	0.005	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05
双蒸水(ml)	0.05	0.049	0.0475	0.045	0.04	0.03	0.02	0.01	0
缓冲液(ml)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
基质液(ml)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
充分混匀, 37°C 水浴 15 分钟									
显色剂(ml)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
立即混匀, 波长 520nm, 光径 0.5cm, 0 管调零, 测定各管吸光度值									

2, 绘图如下:

以所测得的吸光度为纵坐标, 以相应的酚标准浓度为横坐标, 绘制标准曲线。

碱性磷酸酶(AKP)标准曲线



模型	Exponential
方程	$y = y_0 + A \cdot \exp(R_0 \cdot x)$
绘图	测定 OD 值
y0	-168.18461 ± 2899.91998
A	168.17935 ± 2899.912
R0	0.00717 ± 0.12325
Reduced Chi-Sqr	5.66686E-4
R 平方(COD)	0.99821
调整后 R 平方	0.99762

标准曲线采用 OriginPro 2021 软件绘制

