

碱性磷酸酶（AKP）测试盒

微板法：96T

一、测定原理：

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、试剂盒组成与配制：

	组份	96T	保存条件
试剂一	缓冲液	6ml×1 瓶	4℃冷藏保存 6 个月
试剂二	基质液	6ml×1 瓶	4℃冷藏保存 3 个月
试剂三	显色剂	18ml×1 瓶	4℃冷藏保存 6 个月
试剂四	1.1mg/ml 酚标准贮备液	0.5ml×1 支	4℃冷藏保存 6 个月
0.1mg/ml 酚标准应用液配制：1.1 mg/ml 酚标准贮备液：蒸馏水=1：10 稀释，现用现配			

三、操作表：

	空白孔	标准孔	测定孔
双蒸水（ μ l）	5		
0.1mg/ml 酚标准应用液（ μ l）		5	
待测样本（ μ l）			5
缓冲液（ μ l）	50	50	50

基质液 (μl)	50	50	50
充分混匀 37℃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 OD 值。			

四、计算公式:

1、血清计算公式: (适用于培养液、血清、血浆等液体样本的计算)

定义: 100ml 血清或液体在 37℃与基质作用 15 分钟产生 1mg 酚为 1 个金氏单位。

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

2、组织计算公式: (适用于培养细胞、组织等相关样本的计算)

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

组织、细胞中 AKP 活力 测定 OD 值 - 空白 OD 值 标准品浓度 待测样本蛋白浓度

$$\begin{aligned}
 & \text{(金氏单位 / } \\
 & \text{gprot)} = \frac{\text{标准 OD 值 - 空白 OD 值}}{\text{标准 OD 值 - 空白 OD 值}} \times \frac{(0.1\text{mg/ml})}{\text{标准品浓度}} \div \text{待测样本蛋白浓度} \quad (\text{gprot / ml})
 \end{aligned}$$