

组织及血液碱性磷酸酶（AKP/ALP）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC2140

规格：50T/24S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

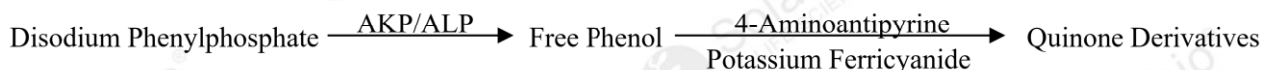
溶液的配制：

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

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。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

- 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、可见分光光度计预热30min以上，调节波长到510nm，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	-	-	20	-





标准品	-	-	-	20
上清液	20	-	-	-
试剂一	200	200	200	200
试剂二	200	200	200	200
混匀后置于37°C水浴中保温15min				
试剂三	600	600	600	600
上清液	-	20	-	-
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°C中每毫克蛋白每分钟催化产生1 μ mol酚为一个酶活力单位。

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

2、按样本质量计算

活性单位定义：37°C中每克组织每分钟催化产生1 μ mol酚为一个酶活力单位。

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

3、按血液体积计算

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

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

C标准品：标准品浓度，2.5 μ mol/mL；V样：加入反应体系中上清液体积，0.02mL；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。

实验实例：

- 1、取 0.1g 小鼠胰腺加入 1mL 提取液进行匀浆研磨，取上清后按照测定步骤操作，测得计算 A 测定管=0.324、A 对照管=0.037、A 空白管=0.022、A 标准管=0.677，按样本质量计算酶活：

$$\text{AKP/ALP 酶活 (U/g 质量)} = 0.167 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W} = 0.732 \text{ U/g 质量。}$$

- 2、取兔血清后直接按照测定步骤操作，测得计算 A 测定管=0.190、A 对照管=0.015、A 空白管=0.022、A 标准管=0.677，按血液体积计算酶活：

$$\text{AKP/ALP 酶活 (U/mL)} = 0.167 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) = 0.0446 \text{ U/mL。}$$

相关发表文献：

[1] Tian D, Yu Y, Yu Y, Lu L, Tong D, Zhang W, Zhang X, Shi W, Liu G. Tris(2-chloroethyl) Phosphate Exerts



Hepatotoxic Impacts on Zebrafish by Disrupting Hypothalamic-Pituitary-Thyroid and Gut-Liver Axes. *Environ Sci Technol*. 2023 Jun 20;57(24):9043-9054. doi: 10.1021/acs.est.3c01631. Epub 2023 Jun 5. PMID: 37276532.

[2] Ren SW, Cao GQ, Zhu QR, He MG, Wu F, Kong SM, Zhang ZY, Wang Q, Wang F. Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells promote osteogenesis through the AKT signaling pathway in postmenopausal osteoporosis. *Aging (Albany NY)*. 2022 Dec 27;14(24):10125-10136. doi: 10.18632/aging.204453. Epub 2022 Dec 27. PMID: 36575048; PMCID: PMC9831744.

[3] Li F, Liu H, Wu X, Song Z, Tang H, Gong M, Liu L, Li F. Tetrathiomolybdate Decreases the Expression of Alkaline Phosphatase in Dermal Papilla Cells by Increasing Mitochondrial ROS Production. *Int J Mol Sci*. 2023 Feb 4;24(4):3123. doi: 10.3390/ijms24043123. PMID: 36834536; PMCID: PMC9960908.

[4] Zhang Q, Zhang Q, Yan X, Wang L, Yuan X. Wrinkled topography regulates osteogenesis via autophagy-mediated Wnt/ β -catenin signaling pathway in MC3T3-E1 cells. *Arch Oral Biol*. 2023 Jul;151:105700. doi: 10.1016/j.archoralbio.2023.105700. Epub 2023 Apr 18. PMID: 37094411.

[5] He Y, Liu K, Guo S, Chang R, Zhang C, Guan F, Yao M. Multifunctional hydrogel with reactive oxygen species scavenging and photothermal antibacterial activity accelerates infected diabetic wound healing. *Acta Biomater*. 2023 Jan 1;155:199-217. doi: 10.1016/j.actbio.2022.11.023. Epub 2022 Nov 17. PMID: 36402298.

参考文献:

[1] Powell MEA, Smith MJH. The Determination of Serum Acid and Alkaline Phosphatase Activity with 4-Aminoantipyrine (A.A.P.) [J]. *Journal of Clinical Pathology*, 1954, 7: 245-248.

[2] Belfield A, Goldberg DM. Revised assay for serum phenyl phosphatase activity using 4-amino-antipyrine[J]. *Enzyme*, 1971, 12(5): 561-573.

[3] Shi Chunfang, Wang Zhiyong, Leng Xiaoyun. et al. Improvement of soil phosphatase activity measurement method[J]. *Experimental Technology and Management*, 2016, 1133(07):48-49.

相关系列产品:

BC2020/BC2025 乙酰胆碱酯酶 (AChE) 活性检测试剂盒

BC2130/BC2135 组织及血液酸性磷酸酶 (ACP) 活性检测试剂盒

BC0840/BC0845 羧酸酯酶 (CarE) 活性检测试剂盒

