

组织及血液碱性磷酸酶（AKP/ALP）活性检测试剂盒说明书

微量法

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：BC2145

规格：100T/48S

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 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 2.5 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/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、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、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°C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°C中每毫克蛋白每分钟催化产生1 μmol酚为一个酶活力单位。

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

$$= 0.167 \times (A \text{测定管} - A \text{对照管}) \div (A \text{标准管} - A \text{空白管}) \div C \text{pr}$$

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 μmol酚为一个酶活力单位。

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

$$= 0.167 \times (A \text{测定管} - A \text{对照管}) \div (A \text{标准管} - A \text{空白管}) \div W$$

3、按液体体积计算

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

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

$$= 0.167 \times (A \text{测定管} - A \text{对照管}) \div (A \text{标准管} - A \text{空白管})$$

C标准品：标准品浓度，2.5 μmol/mL；V样：加入反应体系中上清液体积，0.004 mL；T：反应时间，15 min；V提取：加入提取液体积，1 mL；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 0.1 g 小鼠胰腺加入 1 mL 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=0.169、A 对照管=0.047、A 空白管=0.049、A 标准管=0.449，按样本质量计算酶活：

$$\text{AKP/ALP 酶活 (U/g 质量)} = 0.167 \times (A \text{测定管} - A \text{对照管}) \div (A \text{标准管} - A \text{空白管}) \div W = 0.167 \times (0.169 - 0.047) \div (0.449 - 0.049) \div 0.1 = 0.509 \text{ U/g 质量}.$$

- 2、取兔血清后按照测定步骤操作，测得计算 A 测定管=0.147、A 对照管=0.047、A 空白管=0.049、A 标准管=0.449，按血液体积计算酶活：



AKP/ALP 酶活 (U/mL) = $0.167 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) = 0.167 \times (0.147 - 0.047) \div (0.449 - 0.049) = 0.0418 \text{ U/mL}$ 。

相关发表文献:

- [1] Zhao Z, Liu L, Sun Y, Xie L, Liu S, Li M, Yu Q. Combined microbe-plant remediation of cadmium in saline-alkali soil assisted by fungal mycelium-derived biochar. *Environ Res.* 2024 Jan 1;240(Pt 2):117424. doi: 10.1016/j.envres.2023.117424. Epub 2023 Oct 20. PMID: 37866531.
- [2] Liu K, Zhao D, Zhao H, Yu Y, Yang M, Ma M, Zhang C, Guan F, Yao M. Mild hyperthermia-assisted chitosan hydrogel with photothermal antibacterial property and CAT-like activity for infected wound healing. *Int J Biol Macromol.* 2024 Jan;254(Pt 3):128027. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.128027. Epub 2023 Nov 10. PMID: 37952801.
- [3] Yu C, Dou X, Meng L, Feng X, Gao C, Chen F, Tang X. Structure, rheological properties, and biocompatibility of Laponite® cross-linked starch/polyvinyl alcohol hydrogels. *Int J Biol Macromol.* 2023 Dec 31;253(Pt 8):127618. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.127618. Epub 2023 Oct 23. PMID: 37879585.
- [4] Chen L, Yang P, Hu L, Yang L, Chu H, Hou X. Modulating phenylalanine metabolism by *L. acidophilus* alleviates alcohol-related liver disease through enhancing intestinal barrier function. *Cell Biosci.* 2023 Feb 4;13(1):24. doi: 10.1186/s13578-023-00974-z. PMID: 36739426; PMCID: PMC9899391.
- [5] Zhang C, Liu K, He Y, Chang R, Guan F, Yao M. A multifunctional hydrogel dressing with high tensile and adhesive strength for infected skin wound healing in joint regions. *J Mater Chem B.* 2023 Nov 29;11(46):11135-11149. doi: 10.1039/d3tb01384g. PMID: 37964663.

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

