

碱性磷酸酶（ALP）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHD4-M48	碱性磷酸酶活性检测试剂盒	48T	微量法
AMHD4-M96		96T	微量法

一、测定意义：

碱性磷酸酶（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。广泛分布于人体肝脏、骨骼、肠、肾和胎盘等组织经肝脏向胆外排出的一种酶。主要用于骨骼、肝胆系统疾病的诊断和鉴别诊断，尤其是黄疸的鉴别诊断。

二、测定原理：

碱性环境中，碱性磷酸酶催化底物生成对硝基酚，通过测定对硝基酚的生成量即可计算出样本中碱性磷酸酶（ALP）活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 120mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 15mL×1 瓶	液体 30mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×1 瓶	-20℃保存
试剂二配制： 用时每粉剂加入蒸馏水 6mL,充分混匀溶解，冰上备用。			
试剂三	液体 15mL×1 瓶	液体 30mL×1 瓶	2~8℃保存
标准品（1mg/mL）	液体 1mL×1 支	液体 1mL×2 支	2~8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

- 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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。
- 2、细菌、细胞：按照细胞数量 10⁴ 个：提取液体积（mL）500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎

细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

3、血清（浆）等液体：直接测定。

测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 405nm，蒸馏水调零。
- 2、测定前将试剂恢复至室温；
- 3、将 1mg/mL 标准品用蒸馏水依次稀释至 0、10、20、40、60、80、100μg/mL，备用；
- 4、样本测定（在 96 孔板中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
样品（μL）	10	10	-	-
蒸馏水（μL）	-	-	10	-
标准品（μL）	-	-	-	10
试剂一（μL）	100	100	100	100
试剂二（μL）	20	-	20	20
混匀，37℃孵育 15min				
试剂三（μL）	100	100	100	100
试剂二（μL）	-	20	-	-
混匀，静置 3min，于波长 405nm 酶标仪测定各管吸光度。 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$				

五、碱性磷酸酶活性测定：

- 1、标准曲线绘制：以 $\Delta A_{\text{标准}}$ 吸光度值为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线 $y = kx + b$ ，x 为吸光度值，y 为标准品浓度（μg/mL）。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式计算出样本浓度（y，μg/mL）；
 - 2、血清样本 ALP 计算
- 单位定义：**每毫升血清每分钟催化产生 1μg 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式： $ALP(U/mL) = y \div T = 0.067 \times y$

3、组织、细胞样本 ALP 计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生 $1\mu g$ 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式： $ALP(U/mg\ prot) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T$
 $= 0.067 \times y \div Cpr$

(2) 按样本鲜重计算

单位定义：每克组织催化产生 $1\mu g$ 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式： $ALP(U/g) = y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$
 $= 0.067 \times y \div W$

(3) 按照细菌或细胞数量计算

单位定义：每 1 百万个细菌或细胞每分钟催化产生 $1\mu g$ 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式： $ALP(U/10^6\ cell) = y \times V_{\text{样}} \div (5 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$
 $= 0.013 \times y$

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积， 0.01mL ； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积， 1mL ；

T ：反应时间， 15min ； Cpr ：样本蛋白质浓度， mg/mL ； 5 ：细胞或者细菌数量 500 万。

六、 注意事项：

1、实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测；

2、试剂二需要密封避光保存，用不完的试剂可以 -20°C 分装保存一个月。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日