

## 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 |
| <b>试剂二配制：</b> 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<br>(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  $10^4$  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， $y$  为标准品浓度浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式计算出样本浓度 ( $y$ ,  $\mu\text{g/mL}$ )；

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分催化产生 1 $\mu$ g 对硝基酚的量  
为一个活力单位。

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

#### (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:**  $ALP (U/g) = y \times V_{样} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div T$   
 $= 0.067 \times y \div W$

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

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

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°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