

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
PMHE8-M48	碱性磷酸酶（ALP）活性检测试剂盒	48T	微量法
PMHE8-M96		96T	

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。其活性反映植物磷吸收效率及逆境适应能力。

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 110mL×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 支	粉剂×2 支	2-8℃保存
试剂二的配制：用时每瓶粉剂加入试剂一 6mL，混匀充分溶解。			
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×1 支	2-8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

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常温；

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. 操作表（在离心管中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
样品（μL）	10	10	-	-
蒸馏水（μL）	-	-	-	10
不同浓度标准液（μL）	-	-	10	-
试剂一（μL）	100	100	100	100
试剂二（μL）	20	-	20	20
混匀，37℃孵育 30min。				
试剂三（μL）	100	100	100	100
试剂二（μL）	-	20	-	-
混匀各管，3min 后，于 405nm 波长，空白管调零，读取各管吸光度，分别记为 A _{测定} ，A _{对照} ，A _{标准} ，A _{空白} ，计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ； $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。注意：标准管和空白管只需做 1-2 次。				

五、碱性磷酸酶（ALP）活性计算：

1. 标准曲线的绘制：

以各标准溶液浓度为 y 轴，以 $\Delta A_{标准}$ 为 x 轴拟合标准曲线 $y = kx + b$ 。

将 $\Delta A_{测定}$ 带入方程计算出 y 值（μg/mL）。

2. 按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织催化产生 1μg 对硝基酚的量为一个活力单位。

$$ALP \text{ 活性 (U/g 质量)} = y \div (W \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.033 \times y \div W$$

3. 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 1μg 对硝基酚的量为一个活力单位。

$$ALP \text{ 活性 (U/mg prot)} = y \div Cpr \div T = 0.033 \times y \div Cpr$$

$V_{\text{样总}}$ ：提取液总体积，1mL；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；T：反应时间，30min。

六、注意事项：

- 1、不同样本活性差异较大，需要先做预实验摸索样本浓度或者取样量；
- 2、试剂二需要密封避光保存；
- 3、为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定。

【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