

碱性磷酸酶(ALP)检测试剂盒(磷酸苯二钠微板法)

产品简介:

碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, 简称 ALP 或 AKP)为一类磷酸酯酶, 广泛分布于哺乳动物组织内, 其活性所需最适 pH 9.2~9.8。此酶主要存在于物质交换活跃之处(细胞膜), 如肠上皮和肾近曲小管的刷状缘、附睾上皮之静纤毛、肝的毛细胆管膜以及微动脉和毛细血管动脉部之内皮, 还见于内质网、高尔基复合体、吞饮小泡、肠上皮之溶酶体、中性粒细胞之中性颗粒以及平滑肌的细胞膜。

碱性磷酸酶检测试剂盒(磷酸苯二钠微板法)(Alkaline Phosphatase Colorimetric Assay Kit)采用磷酸苯二钠比色法, 其检测原理是磷酸苯二钠在碱性条件下, 可在碱性磷酸酶的作用下生成游离酚和磷酸, 在碱性条件下酚与氨基安替比林结合, 并经氧化生成红色醌式结构物, 呈深浅不一的红色, 产物红色越深说明碱性磷酸酶活性越高, 反之则酶活性越低, 通过酶标仪测定 510nm 处吸光度, 据此通过比色分析就可以计算出碱性磷酸酶活性水平。该试剂盒可用于检测细胞或组织的裂解液或匀浆液、血浆、血清等样品中内源性的碱性磷酸酶活性。该试剂盒仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称 \ 编号	BN27205	BN27205	Storage
	50T	100T	
试剂(A): Phenol 标准(1mg/ml)	1ml	2ml	4℃ 避光
试剂(B): ALP Assay Buffer	2.5ml	5ml	4℃ 避光
试剂(C): 磷酸苯二钠试剂	2.5ml	5ml	4℃ 避光
试剂(D): ALP 显色试剂 A	2.5ml	5ml	4℃ 避光
试剂(E): ALP 显色试剂 B	5ml	10ml	室温
使用说明书	1 份		

自备材料:

- 1、离心管或小试管、水浴锅或恒温箱
- 2、酶标仪、96 孔板
- 3、ddH₂O 、PBS 或生理盐水

操作步骤(仅供参考):

1、准备样品:

①细胞或组织样品: 取恰当细胞或组织裂解液, 如果有必要可用 PBS 或生理盐水进行适

当匀浆，一般细胞数量在 10^6 以上，组织应在 100mg 以上，3000~4000rpm 离心取上清，-20℃冻存，用于碱性磷酸酶的检测。

②血浆、血清和尿液样品：血浆、血清按照常规方法制备后可以直接用于本试剂盒的测定，尿液通常也可以直接用于测定，-20℃冻存，但为了消除样品本身颜色的干扰，需设置加了血浆或血清但不加底物的对照。

③高活性样品：如果样品中含有较高活性的碱性磷酸酶，可以使用原有的裂解液或 PBS 等进行稀释，如鸡血清、血浆可稀释 5~10 倍后检测。

- 2、配制 ALP 显色试剂：临用前将 ALP 显色试剂 A 和 ALP 显色试剂 B 按 1:2 比例混合即可，不宜长期保存。
- 3、配制标准品工作液：取出 Phenol 标准(1mg/ml)恢复至室温后，取 0.1ml 溶解于 1.9ml ddH₂O，即为标准品工作液-Phenol(0.05mg/ml)。按照下表稀释系列标准品溶液。

加入物(μl)	0	1	2	3	4	5	6
Phenol(0.05mg/ml)	0	5	10	20	30	40	50
ddH ₂ O	55	50	45	35	25	15	5
相当于金氏单位(U/L)	0	5	10	20	30	40	50

- 4、ALP 加样：按照下表设置对照孔、标准孔、测定孔，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的碱性磷酸酶活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置平行孔。

加入物(μl)	对照孔	标准孔	测定孔
Phenol 标准(0~6 号)	—	55	—
待测样品	—	—	55
ALP Assay buffer	50	50	50
37℃水浴中孵育 5min。			
磷酸苯二钠试剂(37℃提前温育)	50	50	50
立即混匀，37℃水浴中准确孵育 15min。			
ALP 显色试剂	150	150	150
待测样品	55	—	—

- 5、ALP 测定：0 号孔(ddH₂O)调零，酶标仪测定对照孔、标准孔、测定孔 510nm 吸光度(即为 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{测定}}$)，详见附录。

计算：碱性磷酸酶金氏活性单位的定义：在 37℃条件下，100ml 待测样品与显色底物(即 ALP 显色液所含物质)作用 15min，产生 1mg 酚为一个金氏单位。

以系列 Phenol 标准(1~6 号)对应的金氏单位(5、10、20、30、40、50U/L)为横坐标，

以相应的 $A_{\text{标准}}$ (1 ~ 6 号) 为纵坐标, 绘制标准曲线。以 $A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 的差值为实际的吸光度, 用该差值与标准曲线进行对比, 求出酶活力单位。

参考区间(37°C):

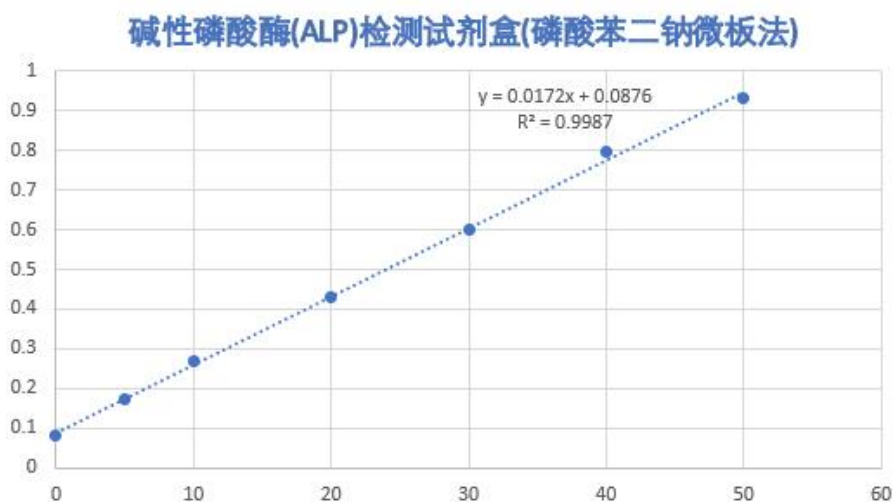
健康成年人	3 ~ 13 金氏单位
健康儿童	5 ~ 28 金氏单位

注意事项:

- 1、待测样品中不能含有磷酸酶抑制剂, 同时需避免反复冻融。
- 2、如果没有酶标仪, 也可以使用分光光度计测定, 但应注意 96 孔板最大检测体积。
- 3、所测样品的值高于标准曲线的上限, 应稀释样品后重新测定。
- 4、空白孔如果显红色, 说明 ALP 显色液不可用, 应丢弃。
- 6、加入 ALP 显色试剂时应迅速, 并且及时混匀, 否则显色不充分。
- 7、如无法检测 510nm, 亦可检测 500 ~ 530nm 范围内吸光度。
- 8、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期: 6 个月有效。常温运输, 4°C 保存。

附录: 参考标准曲线范围: 测定 Phenol 标准在 5~50U/L 金氏单位时, 通过酶标仪 505nm 测定其吸光度多在 0.1~1.0 之间, 标准曲线参考如下:



注意: 由于检测仪器和操作手法等条件的不同, 参考值范围会有波动, 该值仅供参考, 对于要求精确计算 ALP 含量的, 可以进行多点重复测定; 根据 测定经验显示, 标准品浓度在 5U/L 以下, 标准品浓度在 100U/L 以上, 标准曲线会有偏差。