



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

碱性磷酸酶(ALP)检测试剂盒(磷酸苯二钠微板法)

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。

组成:

名称 \ 编号	R21783 50T	R21783 100T	Storage
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 10⁶ 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。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

加入物(μ l)	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℃):

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。

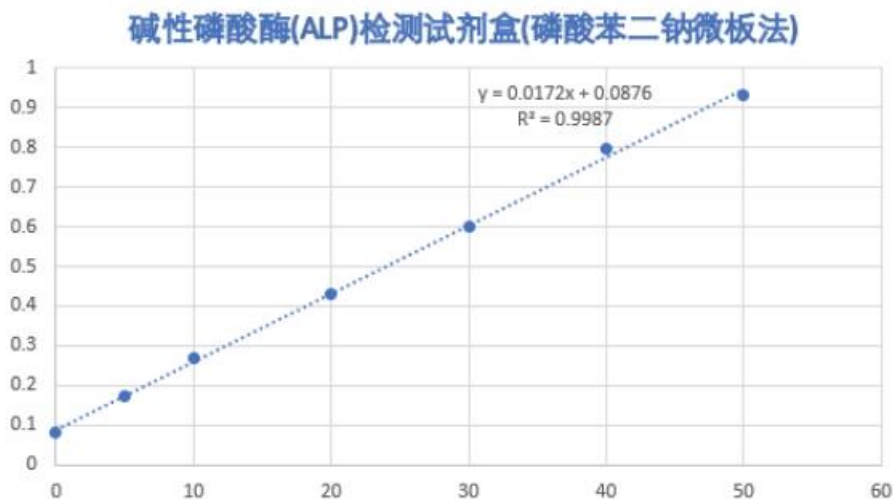


上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

- 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℃ 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。