

碱性磷酸酶同工酶检测试剂盒（热稳定性法）

产品货号：BA1629

产品规格：100T

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。碱性磷酸酶同工酶有肝、骨、小肠、胎盘、胆汁等同工酶。

碱性磷酸酶同工酶检测试剂盒(热稳定性法)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, 通过比色法(分光光度计或酶标仪)测定510nm处吸光度, 据此通过比色分析就可以计算出总的碱性磷酸酶活性水平。同时通过56℃、65℃加热后测定残余ALP活性, 以确定同工酶的性质。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酯酶活性。如果用分光光度计, 100T的检测试剂盒可检测25次左右; 如果用酶标仪, 100T的检测试剂盒可检测250次左右。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	100T	保存条件
试剂(A):ALP Assay buffe	50ml	2-8℃, 避光
试剂(B): ALP显色液	50ml	-20℃, 避光
试剂(C): 显色基液	150ml	-20℃, 避光
试剂(D):Phenol标准(1mg/ml)	2ml	室温
试剂(E): ddH ₂ O	10ml	室温

自备材料：

1. 离心管或96孔板
2. 水浴锅或恒温箱
3. 分光光度计或酶标仪

操作步骤 (仅供参考)：

1. 配制标准品工作液：取出Phenol标准(1mg/ml)恢复至室温后, 取溶解于ddH₂O, 使浓度达到, 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。

	0	1	2	3	4	5
Phenol(0.05mg/ml)(ml)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
ddH ₂ O(ml)	0.55	0.45	0.35	0.25	0.15	0.05
相当于金氏单位(U/L)	0	10	20	30	40	50

2. 准备样品：

- ①细胞或组织样品：取恰当细胞或组织裂解液, 如果有必要需进行适当匀浆, 低速离心取上清, 冻存, 用于碱性磷酸酯酶的检测。
- 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, 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



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

浆可稀释后检测。

3. 使用分光光度计检测:

检测总ALP: 按照下表设置对照管、标准管、测定管, 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酯酶活性过高, 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管。

加入物 (ml)	对照管	标准管	测定管
Phenol标准(1~5号管)	-	0.55	-
待测样品	-	-	0.55
ALP Assay buffer	0.50	0.50	0.50
37℃水浴中孵育5min。			
ALP显色液(37℃提前温育)	0.50	0.50	0.50
立即混匀, 37℃水浴中准确孵育。			
显色基液	150	150	150
待测样品	55	-	-

检测ALP同酶: 取相同样本, 分别置于56℃和65℃水浴, 准确孵育, 期间不断晃动使温度尽快平衡, 然后立即冰浴至室温。其余操作同上。

用分光光度计, 以0号管(ddH₂O)调零, 读取对照管、标准管、测定管吸光度(即A对照 A标准、A测定), 如无法检测, 亦可检测范围内吸光度, 一般应数小时内检测完毕。

4. 使用酶标仪检测:

检测总ALP: 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酯酶活性过高, 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(1~5号管)	-	55	-
待测样品	-	-	55
ALP Assay buffer	50	50	50
水浴中孵育5min。			
ALP显色液(37℃提前温育)	50	50	50
立即混匀, 水浴中准确孵育。			
显色基液	1.50	1.50	1.50
待测样品	0.55	-	-

检测ALP同工酶: 取相同样本, 分别置于56℃和65℃水浴, 准确孵育, 期间不断晃动使温度尽快平衡, 然后立即冰浴至室温。其余操作同上。

用酶标仪, 以0号孔(ddH₂O)调零, 读取对照孔、标准孔、测定孔的吸光度(即A对照、A标准、A测定), 如无法检测, 亦可检测范围内吸光度, 一般应数小时内检测完毕。

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(U/L)。

以系列Phenol标准(1~5号管)对应的金氏单位为x轴以相应的A标准(1~5号管)为y轴, 绘制标准曲线, 亦可分别制作标准曲线。以A测定-A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, 求出总ALP、56℃加热后ALP、65℃加热后ALP活性单位。

$$56^{\circ}\text{C加热后ALP残余活性百分率} = 56^{\circ}\text{C加热后ALP残余活性} / \text{总ALP活性} \times 100\%$$

$$65^{\circ}\text{C加热后ALP残余活性百分率} = 65^{\circ}\text{C加热后ALP残余活性} / \text{总ALP活性} \times 100\%$$



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

参考区间:

健康成年人总ALP	3-13金氏单位
健康儿童总ALP	5-28金氏单位

加热后ALP残余活性百分率

来源	56℃	65℃
骨	0.19~5%	0
肝	1.77~8%	0
肠	69.5~81.3%	0~0.95%
胎盘	90.7~99%	87~94%

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. 如果没有分光光度计，也可以使用酶标仪测定。
3. 所测样本的值高于标准曲线的上限，应稀释样品后重新测定。
4. 空白管如果显红色，说明ALP显色液不可用，应丢弃。
5. 加入显色基液时，应迅速，并且及时混匀，否则显色不充分。
6. 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。

扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com