

碱性磷酸酶 (ALP) 检测试剂盒 (磷酸苯二钠微板法)

产品货号: BA1627

产品规格: 50T/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。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酯酶活性。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:

产品名称	50T	100T	保存条件
试剂(A): ALP Assay buffer	2.5ml	5ml	2-8℃, 避光
试剂(B): ALP显色液	2.5ml	5ml	2-8℃, 避光
试剂(C): 显色基液	7.5ml	15ml	2-8℃, 避光
试剂(D): Phenol 标准(1mg/ml)	1ml	2ml	室温
试剂(E): ddH ₂ O	5ml	10ml	室温

自备材料:

1. 离心管或小试管
2. 水浴锅或恒温箱
3. 96孔板
4. 酶标仪

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, 3000~4000g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, 使浓度达到



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

0.05mg/ml, 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
Phenol(0.05mg/ml)	0	10	20	30	40	50
ddH ₂ O	55	45	35	25	15	5
相当于金氏单位(U/L)	0	10	20	30	40	50

3. 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
37°C水浴中孵育5min			
ALP显色液(37°C提前温育)	50	50	50
立即混匀, 37°C水浴中准确孵育15min			
显色基液	150	150	150
待测样品	55	-	-

4. 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_{对照}、A_{标准}、A_{测定})。

计算: 碱性磷酸酶金氏活性单位的定义: 在37°C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(1~5号)对应的金氏单位(10、20、30、40、50U/L)为横坐标, 以相应的A_{标准} (1~5号)为纵坐标, 绘制标准曲线。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:

- 待测样品中不能含有磷酸酶抑制剂, 同时需避免反复冻融。
- 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。
- 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。
- 空白孔如果显红色, 说明ALP显色液不可用, 应丢弃。
- 加入显色基液时应迅速, 并且及时混匀, 否则显色不充分。
- 如无法检测510nm, 亦可检测500~530nm范围内吸光度。
- 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。4°C运输, 4°C保存。



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