## 碱性磷酸酶(ALP)检测试剂盒

## (磷酸苯二钠微板法)说明书

# **产品简介：**

碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase，简称 ALP 或 AK P)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p H 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 Colori m etricAssay 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 510n m 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：**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 编号  名称 | RC21783  100T | Storage |
| 试剂(A): ALP Assay buffer | 5 ml | 4℃ 避光 |
| 试剂(B): ALP 显色液 | 5 ml | 4℃ 避光 |
| 试剂(C): 显色基液 | 15 ml | 4℃ 避光 |
| 试剂(D): Phen ol 标准(1 m g/ ml) | 2ml | 4℃ 避光 |
| 试剂(E): dd H2 O | 10 ml | R T |
| 使用说明书 | 1份 | |

**自备材料：**

1. 离心管或小试管
2. 水浴锅或恒温箱

3、96 孔板

1. 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 106以上，组织应在 100 m g 以上，3000 ~ 4000 g 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。

1. 配制标准品工作液：取出 Phen ol 标准(1 m g/ ml)恢复至室温后，取 0.1 ml 溶解于 1.9 ml d d H2 O，使浓度达到 0.05 m g/ ml，即为标准品工作液-Phen ol(0.05 m g/ ml)。按照下表 稀释系列标准品溶液。

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 加入物(μ l) | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| P hen ol(0.05 m g/ ml) | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
| d d H2 O | 55 | 45 | 35 | 25 | 15 | 5 |
| 相当于金氏单位(U/L) | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |

1. 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(μ l) | 对照孔 | 标准孔 | 测定孔 |
| P hen ol 标准(1～5 号) | - | 55 | - |
| 待测样品 | - | - | 55 |
| AL P Assay buffer | 50 | 50 | 50 |
| 37℃水浴中孵育 5 min。 | | | |
| AL P 显色液(37℃提前温育) | 50 | 50 | 50 |
| 立即混匀，37℃水浴中准确孵育 15 min。 | | | |
| 显色基液 | 150 | 150 | 150 |
| 待测样品 | 55 | - | - |

1. ALP 测定：0 号孔(dd H2 O)调零，酶标仪测定对照孔、标准孔、测定孔 510n m 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℃条件下，100 ml 待测样品与显色底物(即 AL P 显色液所含物质)作用 15 min，产生 1 m g 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、50 U/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℃)**：**

|  |  |
| --- | --- |
| 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。
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. 如无法检测 510n m，亦可检测 500～530n m 范围内吸光度。

7、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℃运输，4℃保存。