

碱性磷酸酶同工酶检测试剂盒（抑制敏感法）

产品货号：BA1630

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pH9.2~9.8。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(抑制敏感法)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33次左右; 如果用酶标仪, 100T的检测试剂盒可检测330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
试剂(F):尿素抑制剂	4ml	2-8℃
试剂(G):苯丙氨酸抑制剂	4ml	2-8℃

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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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。样品的检测测最好能设置平行管。

加入物 (ml)	对照管	标准管	尿素测定管	苯丙测定管	总ALP测定管
Phenol标准(1~5号管)	-	0.2	-	-	-
待测样品	-	-	0.1	0.1	0.2
尿素抑制剂	-	-	0.1	-	-
苯丙氨酸抑制剂	-	-	-	0.1	-
ALP Assay buffer	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
水浴中孵育。					
ALP显色液(37℃提前温育)	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
立即混匀，水浴中准确孵育。					
显色基液	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
待测样品	0.2	-	-	-	-

用分光光度计，以对照管(ddH₂O)调零，读取对照管、标准管、尿素测定管、苯丙测定管、总测定管的吸光度(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。

4. 使用酶标仪检测：

检测总ALP：按照下表设置对照孔、标准孔、尿素测定孔、苯丙测定孔、总测定孔，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	尿素测定孔	苯丙测定孔	总ALP测定孔
Phenol标准(1~5号管)	-	20	-	-	-
待测样品	-	-	10	10	20
尿素抑制剂	-	-	10	-	-
苯丙氨酸抑制剂	-	-	-	10	-
ALP Assay buffer	20	20	20	20	20
水浴中孵育。					
ALP显色液(37℃提前温育)	50	50	50	50	50
立即混匀，水浴中准确孵育。					
显色基液	150	150	150	150	150
待测样品	20	-	-	-	-

用酶标仪，以0号孔(ddH₂O)调零，读取对照孔、标准孔、尿素测定孔、苯丙测定孔、总测定孔的吸光度(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)。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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、尿素抑制、苯丙抑制ALP活性单位。

尿素抑制ALP残余活性百分率= (尿素抑制ALP残余活性×2) / 总ALP活性×100%

苯丙抑制ALP残余活性百分率= (苯丙抑制ALP残余活性×2) / 总ALP活性×100%

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

抑制ALP残余活性百分率

	尿素	苯丙氨酸
肝	10~20%	-
骨	1~9%	-
胎盘	-	≤0.6
非胎盘	-	≥0.7

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

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com