

碱性磷酸酶 (ALP) 检测试剂盒 (微量酶标法)

48 T WLA064a 96T WLA064b



仅用于科学研究,不能用于诊断

产品信息

产品名称 碱性磷酸酶 (ALP) 检测试剂盒 (微量酶标法)

产品概述 碱性磷酸酶ALP几乎存在于身体各种组织中,是膜结合酶。肠上皮、肾小管、成骨细胞、肝脏、胎盘及白細胞中尤其丰富。血清中ALP主要来源于肝和骨。ALP与肠内脂质转移及骨质钙化有关。血清ALP测定对肝胆系统及骨骼系统疾病的研究有参考意义。

碱性磷酸酶分解磷酸苯二钠,产生游离酚和磷酸,酚在碱性溶液中与4-氨基安替吡啉作用经铁氰化钾氧化生成红色醌衍生物,根据红色深浅可以测定酶活力的高低。

本试剂盒可测动物血清(浆)、组织、各种体液、灌流液、各种培养细胞以及细胞培养上清液等。

包装信息

试剂名称	WLA064a (48T)	WLA064b (96T)	保存条件
缓冲液	3ml	6ml	4°C, 避光
基质液	3ml	6ml	4°C, 避光
显色剂	9ml	18ml	4°C, 避光
1.1mg/ml酚标准贮存液	0.5ml	1ml	4°C, 避光
0.1mg/ml酚标准工作液的配制为1.1mg/ml酚标准贮存液: 双蒸水=1:10稀释, 现用现配。			

保存日期 本试剂盒自订购之日起6月内有效。

操作流程

一、样本前处理:

- 血清(浆): 可直接取样用于测定(个别含量过高的样本需要稀释后测定,如鸡血清(浆)中ALP活力较高,一般需要用生理盐水5倍或10倍稀释后待测)。
- 组织: 准确称取待测组织的重量,按重量(g): 体积(ml) = 1:9的比例,加入9倍体积的生理盐水进行匀浆,2500rpm,离心10min,取上清液进行测定。
- 细胞培养液: 吸取细胞培养液,1000-1500rpm,离心10min,取上清液进行测定。
- 培养细胞:
 - 培养细胞的收集:

悬浮培养细胞: 可直接通过离心收集沉淀细胞(1000rpm,离心10min,弃上清留沉淀细胞)。

贴壁培养的细胞: 吸去上清,可通过细胞刮直接将细胞刮下,然后1000rpm,离心10min弃上清,留沉淀细胞,再加入1mlPBS轻轻吹打,再次1000rpm,离心10min弃上清,留沉淀细胞待用。
 - 培养细胞的破碎: 在细胞沉淀中加入一定量(10⁸的细胞一般加0.3-0.5ml)的缓冲液(缓冲液可以用PBS或者是生理盐水),需保证超声探头在液面以下。功率300W,冰水浴,每3-5s超声一次,间隔4次(每次间隔时间为30s左右)。

碱性磷酸酶 (ALP) 检测试剂盒 (微量酶标法)

48 T WLA064a 96T WLA064b



仅用于科学研究,不能用于诊断

产品信息

二、血清 (浆) 中ALP的测定, 如下操作表:

试剂名称	空白孔	标准孔	测定孔
双蒸水 (μl)	5		
0.1mg/ml酚标准工作液 (μl)		5	
待测样本 (μl)			
缓冲液 (μl)	50	50	50
基质液 (μl)	50	50	50

充分混匀, 37°C水浴, 15min

显色剂 (μl)	150	150	150
----------	-----	-----	-----

轻轻振荡孔板混匀, 波长520nm, 酶标仪测定各孔吸光度OD值。

细胞 (培养上清) 中ALP的测定, 如下操作表:

试剂名称	空白孔	标准孔	测定孔
双蒸水 (μl)	30		
0.02mg/ml酚标准工作液 (μl)		30	
待测样本 (μl)			30
缓冲液 (μl)	50	50	50
基质液 (μl)	50	50	50

充分混匀, 37°C水浴, 15min

显色剂 (μl)	150	150	150
----------	-----	-----	-----

轻轻振荡孔板混匀, 波长520nm, 酶标仪测定各孔吸光度OD值。

三、计算公式:

1. 血清 (浆) 中ALP活力计算公式:

单位定义: 100ml 血清在37°C与基质作用15min产生1mg酚为1个金氏单位。

$$\text{血清中ALP活力 (金氏单位/100ml)} = \frac{\text{测定OD值} - \text{空白OD值}}{\text{标准OD值} - \text{空白OD值}} \times \frac{\text{酚标准品浓度}}{(0.1\text{mg/ml})} \times 100\text{ml} \times \frac{\text{样本测定前}}{\text{稀释倍数}}$$

2. 组织样本中ALP活力计算公式:

单位定义: 每克组织蛋白在37°C与基质作用15min产生1mg酚为1个金氏单位。

$$\text{组织中ALP活力 (金氏单位/gprot)} = \frac{\text{测定OD值} - \text{空白OD值}}{\text{标准OD值} - \text{空白OD值}} \times \frac{\text{酚标准品浓度}}{(0.1\text{mg/ml})} \div \frac{\text{待测样本蛋白浓度}}{(\text{gprot/ml})}$$

碱性磷酸酶 (ALP) 检测试剂盒 (微量酶标法)

48 T WLA064a 96T WLA064b



仅用于科学研究,不能用于诊断

产品信息

3. 培养液中ALP活力计算公式：

单位定义：100ml 液体在37°C与基质作用15min产生1mg酚为1个金氏单位。

$$\text{培养液中ALP活力 (金氏单位/100ml)} = \frac{\text{测定OD值} - \text{空白OD值}}{\text{标准OD值} - \text{空白OD值}} \times \frac{\text{酚标准品浓度 (0.02mg/ml)}}{\text{样本测定前稀释倍数}} \times 100\text{ml}$$

4. 培养细胞ALP活力计算公式：

单位定义：每克组织蛋白在37°C与基质作用15min产生1mg酚为1个金氏单位。

$$\text{培养细胞中ALP活力 (金氏单位/gprot)} = \frac{\text{测定OD值} - \text{空白OD值}}{\text{标准OD值} - \text{空白OD值}} \times \frac{\text{酚标准品浓度 (0.02mg/ml)}}{\text{待测样本蛋白浓度 (gprot/ml)}}$$