

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、胎盘及白细胞中尤其丰富。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。

试剂名称	WLA064a (48T)	WLA064b (96T)	保存条件
缓冲液	3ml	6ml	4℃，避光
基质液	3ml	6ml	4℃，避光
显色剂	9ml	18ml	4℃，避光
1.1mg/ml酚标准贮存液	0.5ml	1ml	4℃，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3个月内有效。

操作流程

一、样本前处理：

1. 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）。
2. 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。
3. 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。
4. 培养细胞：
 - a. 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。
 - b. 培养细胞的破碎：在细胞沉淀中加入一定量（10⁶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

Wanleibio



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 ）			5
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。

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

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。

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

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℃与基质作用15min产生1mg酚为1个金氏单位。

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

4. 培养细胞ALP活力计算公式：

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

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