

碱性磷酸酶(ALP)检测试剂盒

(用于血清、血浆、细胞培养上清液和其它生物体内)

原理

本试剂适用于体外定量测定人血清或血浆中碱性磷酸酶 (ALP) 的活力。ALP 增高常见于骨骼或肝脏疾病, 包括胆管。ALP 增高 (通常 α -谷氨酰转移酶含量正常) 多见于骨软化、佝偻病、与骨有关的原发性甲状旁腺功能亢进、变形性骨炎、继发性骨癌和某些骨肉瘤病症。ALP 增高 (通常 α -谷氨酰转移酶含量增高) 多见于胆汁郁积、肝炎、肝硬化、恶性肿瘤等。ALP 降低可见于骨停止生长、低磷酸酶血症。

本实验采用比色法在酶标板上反应, 标准品和样品中的 ALP 与 PNPP 底物工作液显色, 最后加终止液, 在 405nm 处测 OD 值, ALP 浓度与 OD 值成正比, 可通过绘制标准曲线求出标本中 ALP 浓度。

试剂盒组成 (2-8℃保存)

酶标板 (Coated Wells)	96孔	标准品 (Standards): 50U/ml	0.5ml
底物工作液 (PNPP Solution)	12ml	终止液 (Stop Solution)	12ml

准备试剂与收集血样

- 收集标本: 血清、血浆 (EDTA、柠檬酸盐、肝素抗凝)、尿液、细胞培养上清液、组织匀浆等尽早检测, 2-8℃保存 48 小时; 更长时间须冷冻 (-20℃或-70℃) 保存, 避免反复冻融。血清、血浆、细胞培养上清可能需用蒸馏水稀释, 请先做预实验, 以确定稀释倍数。
- 标准品液配制: 设标准管 8 管, 第一管加蒸馏水 980ul, 第二至第八管加入蒸馏水 500ul。在第一管中加入 50U/ml 的标准品溶液 20ul 混匀后用加样器吸出 500ul, 移至第二管。如此反复作对倍稀释, 从第七管中吸出 500ul 弃去。第八管为空白对照。

检测程序

- 加样: 每孔各加入标准品或待测样品 20ul。
- 每孔加入底物工作液 100ul, 置 37℃暗处反应 30 分钟。
- 每孔加入 100ul 终止液混匀。
- 30 分钟内用酶标仪在 405nm 处测吸光值。

结果计算与判断

- 所有 OD 值都应减除空白值后再行计算。
- 以标准品 1000、500、250、125、62.5、31.2、15.6、0 U/L 为横坐标, OD 值为纵坐标, 在坐标纸上作图, 画出标准曲线。
- 根据样品 OD 值在该曲线图上查出相应 ALP 含量。

试剂盒性能

- 灵敏度: 最小的 ALP 检测浓度小于 8U/L。
- 特异性: 可同时检测重组或天然的 ALP。不与其他细胞因子有交叉反应。
- 重复性: 板内、板间变异系数均小于 10%。

注意事项

- 以上标准孔及待测样品均建议做复孔, 每次测定应同时做标准曲线。
- 板条开封后剩余板条要再封好, 保持板条干燥。
- 本试剂盒宜置 4℃冰箱保存。
- 本试剂盒仅用于科研, 不能用于临床诊断!
- 样本如果浑浊需要离心或稀释后检测。