



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
 订货热线: 400-168-3301或800-8283301  
 订货e-mail: order@beyotime.com  
 技术咨询: info@beyotime.com  
 网址: http://www.beyotime.com

## 胎盘碱性磷酸酶检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装
P0329	胎盘碱性磷酸酶检测试剂盒	100次

### 产品简介:

- 碧云天生产的胎盘碱性磷酸酶检测试剂盒(Placental Alkaline Phosphatase Assay Kit)是一种用于快速、便捷地检测血清、血浆、尿液或细胞或组织样品的裂解或匀浆产物的上清液等样品中内源性的胎盘碱性磷酸酶活性的试剂盒。
- 碱性磷酸酶(Alkaline Phosphatase, AP/ALP/AKP/ALKP/ALPase/Alk Phos), 也称碱性磷酸酯酶(EC 3.1.3.1), 可以在碱性条件下, 催化磷酸酯键的水解。哺乳动物中, 肝脏、胆管、肾脏、骨头和胎盘中的碱性磷酸酶活性比较高。常见的碱性磷酸酶包括肠道碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, intestinal, ALPI)、非组织特异性碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme, ALPL)和胎盘碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, placental type, 也称placental alkaline phosphatase, PLAP)。常见的小牛肠碱性磷酸酶(Calf Intestinal Alkaline Phosphatase, CIAP/CIP)被广泛用于二抗等的标记最终用于蛋白和核酸等的检测, 也常用于DNA或RNA 5' 和3' 末端的去磷酸化(去单磷酸化), 特别是质粒的5' 末端去磷酸化以避免质粒自连等。
- 胎盘碱性磷酸酶是一种膜结合的糖基化的碱性磷酸酶, 具有较高的热稳定性, 主要分布在胎盘。血液中胎盘碱性磷酸酶的升高被认为是肿瘤的特征性指标, 特别是精原细胞癌和卵巢癌的重要分子标记。
- 本试剂盒可以检测细胞或组织样品的裂解或匀浆产物的上清液、血浆、血清、尿液或纯化的酶样品等中的胎盘碱性磷酸酶活性。
- 本试剂盒一方面利用了胎盘碱性磷酸酶的热稳定性, 加热处理后去除了绝大部分其它碱性磷酸酶, 另一方面, 优化了胎盘碱性磷酸酶的检测条件, 使检测体系更适合于胎盘碱性磷酸酶的检测。
- Para-nitrophenyl phosphate (pNPP)是一种常用的磷酸酶显色底物, 在碱性条件下, 可在胎盘碱性磷酸酶作用下生成 para-nitrophenol. para-nitrophenol (*p*-nitrophenol)在碱性条件下, 呈黄色产物, 可以在400-415nm检测吸光度。产物黄色越深, 说明胎盘碱性磷酸酶活性越高, 反之则酶活性越低。据此通过比色分析就可以计算出胎盘碱性磷酸酶活性水平。
- 包括标准品和空白对照, 本试剂盒共可进行100个样品的检测。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
P0329-1	检测缓冲液	15ml
P0329-2	显色底物	2管
P0329-3	<i>p</i> -nitrophenol溶液(10mM)	0.1ml
P0329-4	反应终止液	12ml
—	说明书	1份

### 保存条件:

-20°C保存, 一年有效。其中显色底物和*p*-nitrophenol溶液需避光保存。

### 注意事项:

- 如果希望进行酶活性的绝对定量, 进行酶反应时必须注意精确计时。此时推荐采用孵育30分钟等较长的时间, 以减小操作过程中的时间误差。同时如果样品中酶活性较高, 则可以预先适当稀释样品。
- 样品溶液中须避免出现EDTA、氟离子、柠檬酸盐等碱性磷酸酶的抑制剂。
- 检测缓冲液和*p*-nitrophenol溶液对人体有害, 操作时请小心, 并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。反应终止液有腐蚀性, 操作时请小心, 并注意有效防护以避免直接接触人体或腐蚀其他物品。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明:

- 试剂准备: 将所有试剂取出, 恢复至室温使用。
  - 显色底物溶液: 取一管显色底物, 溶解于2.5ml的检测缓冲液中, 充分溶解和混匀, 冰上放置。新鲜配制的显色底物溶液需在6小时内使用。
  - 标准品工作液: 取10μl *p*-nitrophenol溶液(10mM), 用检测缓冲液稀释至0.2ml, 最终浓度为0.5mM。
- 样品准备:
  - 细胞或组织裂解液的准备: 采用适当细胞或组织裂解液裂解细胞或组织, 建议使用碧云天的 P0013J Western 及 IP 细胞裂

解液(无抑制剂)裂解相关样品。如果有必要需进行适当匀浆, 随后离心取上清, 用于碱性磷酸酶的检测。注意: 裂解液中不能含有磷酸酶抑制剂。样品可以-80°C冻存, 但需避免反复冻融。

- b. 血浆、血清和尿液的准备: 血浆和血清按照常规方法制备后可以直接用于本试剂盒的测定, 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。血浆制备时不能用含EDTA和柠檬酸盐的抗凝管。尿液通常也可以直接用于测定。上述样品可以-80°C冻存, 但需避免反复冻融。
  - c. 样品的稀释: 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, 也可以采用试剂盒中的检测缓冲液进行稀释。如果使用试剂盒中提供的检测缓冲液进行稀释, 需注意保留足够的检测缓冲液用于试剂盒的检测过程。
  - d. 样品检测前的加热处理: 待检测的样品在检测前65°C加热30分钟, 随后回复到室温用于后续检测。
3. 参考下表使用96孔板设置空白对照孔、标准品孔和样品孔。标准品的用量分别为4、8、16、24、32和40微升, 样品通常可以直接加50微升。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。

	空白对照(Blank)	标准品(Standard)	样品(Sample)
检测缓冲液	50μl	(100-x)μl	(50-y)μl
显色底物	50μl	—	50μl
样品	—	—	yμl
标准品工作液	—	xμl	—

4. 用枪头轻轻吹打混匀, 也可借助摇床进行混匀。
5. 37°C孵育5-10分钟。(说明: 待测样品中碱性磷酸酶活性较低时, 可适当延长孵育时间至30分钟)
6. 每孔加入100μl反应终止液终止反应。此时, 标准品或有碱性磷酸酶活性的孔会呈现不同深浅的黄色。
7. 在405nm测定吸光度。如果不能测定405nm, 也可以在400-415nm范围内检测吸光度。如果不能立即测定, 可以在数小时内完成测定, 所显现的黄色在数小时内稳定。
8. 碱性磷酸酶活性单位的定义: 在pH9.8的diethanolamine(DEA)缓冲液中, 37°C条件下, 每分钟水解para-nitrophenyl phosphate显色底物产生1微摩尔p-nitrophenol所需的碱性磷酸酶的量定义为一个酶活力单位, 也被称作一个DEA酶活力单位。在pH9.6的甘氨酸缓冲液中, 25°C条件下, 每分钟水解para-nitrophenyl phosphate显色底物产生1微摩尔p-nitrophenol所需的碱性磷酸酶的量定义为一个酶活力单位, 也被称作一个Glycine酶活力单位。一个Glycine酶活力单位约相当于3个DEA酶活力单位。本试剂盒测定的是DEA酶活力单位。
9. 根据酶活性定义, 计算出样品中的胎盘碱性磷酸酶活性。

#### 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
P0013J	Western及IP细胞裂解液(无抑制剂)	100ml
P0321	碱性磷酸酶检测试剂盒	100次
P0326	酸性磷酸酶检测试剂盒	120次
P0329	胎盘碱性磷酸酶检测试剂盒	100次
P0332	抗酒石酸酸性磷酸酶检测试剂盒	120次
P0335	抗氟离子酸性磷酸酶检测试剂盒	120次

#### 使用本产品的文献:

1. Jiang Y, Gou H, Wang S, Zhu J, Tian S, Yu L. Effect of Pulsed Electromagnetic Field on Bone Formation and Lipid Metabolism of Glucocorticoid-Induced Osteoporosis Rats through Canonical Wnt Signaling Pathway. Evid Based Complement Alternat Med. 2016;2016:4927035.
2. Zhu L, Kang H, Guo CA, Fan WS, Wang YM, Deng LF, Yan ZQ. Rifampin suppresses osteoclastogenesis and titanium particle-induced osteolysis via modulating RANKL signaling pathways. Biochem Biophys Res Commun. 2017 Feb 26;484(1):64-70.

Version 2017.09.14