

酸性磷酸酶(ACP)检测试剂盒(磷酸苯二钠微板法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

酸性磷酸酶(acidphosphatase, ACP)分布极广泛，遍布各种组织，主要存在于细胞的溶酶体内，所以常作为溶酶体标志酶。溶酶体外的酸性磷酸酶存在于内质网和胞质内，各种动物中的酸性磷酸酶各有不同，酸性磷酸酶的适宜 pH 为 4.5~5.5。酸性磷酸酶是一个蛋白家族，哺乳动物中其分子量从 18kD 到 100kD 不等，该酶分为两类，一类为酒石酸盐敏感型，一类为氟离子敏感型。溶酶体中的酸性磷酸酶为酒石酸盐敏感型，而红细胞和巨噬细胞中的酸性磷酸酶为氟离子敏感型。

酸性磷酸酶(ACP)检测试剂盒(磷酸苯二钠微板法)(AcidPhosphataseColorimetricAssayKit)检测原理是酸性磷酸酶(ACP)水解磷酸苯二钠，产生酚和无机磷，经碱处理后酚能与 4-AAP 反应，产物经氧化生成红色醌类化合物，红色越多说明酸性磷酸酶活性越高，反之则酶活性越低，通过分光光度比色法测定 510nm 处吸光度，据此通过比色分析就可以计算出酸性磷酸酶活性水平。该试剂盒主要用于检测血清中前列腺酸性磷酸酶活性，亦可用于检测细胞或组织的裂解液或匀浆液、血浆、血清、尿液等样品中内源性的酸性磷酸酯酶活性。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	规格	保存条件
酸性磷酸酶(ACP)检测试剂盒	100T	4℃
试剂(A):Phenol(10mM)	1ml	4℃避光
试剂(B):酸性基液	1.5ml	RT
试剂(C):ACPAssaybuffer	1ml	4℃避光
试剂(D):碱性基液	20ml	RT
试剂(E):ACP 显色基液	3ml	4℃避光
试剂(F):ACP 显色液	3ml	RT 避光
使用说明书	1 份	
有效期	6 个月	

自备材料：

- 1、蒸馏水
- 2、离心管或试管
- 3、恒温箱或水浴锅

4、96 孔板

5、酶标仪

操作步骤(仅供参考):

1、准备样品:

①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, -20℃冻存, 用于酸性磷酸酶的检测。

②细胞或组织样品: 取恰当细胞或组织裂解液, 如果有必要可用 PBS 或生理盐水进行适当匀浆, 一般细胞数量在 10⁶ 以上, 组织应在 100mg 以上, 3000~4000g 离心取上清, -20℃冻存, 用于酸性磷酸酶的检测。

③植物样品: 取适量的植物组织加入少量生理盐水或 PBS, 充分捣碎或研磨, 静置 30min, 用纱布或滤纸过滤, 4000g 离心 20min, 留取上清液并测量体积, -20℃冻存, 用于酸性磷酸酶的检测。

④高活性样品: 如果样品中含有较高活性的酸性磷酸酶, 可以使用原有的裂解液或 PBS 等进行稀释, 也可以采用 ACPAssaybuffer 稀释。

2、稀释标准品: 取适量的 Phenol(10mM)和蒸馏水, 按下表稀释成 0、0.1mM、0.2mM、0.3mM、0.4mM、0.5mM。

加入物(μl)	0	1	2	3	4	5
Phenol(10mM)	0	10	20	30	40	50
蒸馏水	1000	990	980	970	960	950
相当于 ACP 活性(U/L)	0	10	20	30	40	50

3、ACP 加样: 按照下表设置空白孔、标准孔、测定孔, 溶液应按照顺序依次加入, 并注意避免产生气泡。如果样品中的酸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 2 平行孔, 求平均值。

加入物(μl)	空白孔	标准孔	测定孔
蒸馏水	5	—	—
系列 Phenol 标准	—	5	—
待测样品	—	—	5
酸性基液	10	10	10
ACPAssaybuffer	5	5	5
37℃准确保温 15min, 依次加入下列溶液, 每加 1 种均应混匀。			
碱性基液	180	180	180
ACP 显色基液	25	25	25
ACP 显色液	25	25	25

4、ACP 测定: 轻轻混匀, 室温放置 10min, 空白孔调零, 酶标仪测定 510nm 处标准孔、

测定孔的吸光度(记为 A 标准、A 测定), 一般 15min 内检测完毕。

计算:

ACP 活性单位的定义: 在该实验条件下, 每分钟每 ml 酶液产生 1nmol 酚(nmol/ml · min)为一个活性单位。求平均值, 以各标准孔吸光度为纵坐标, 相应的酚含量即 ACP 活性(U/L)为横坐标, 绘制 ACP 活性单位吸光度值曲线, 即为标准曲线。根据测得的各待测样品的吸光度, 于标准曲线上查出相应的 ACP 活性单位, 乘以稀释倍数后, 换算为” nmol/ml · min” 的活性单位。

组织或植物粗酶液获得率(ml)=上清液体积(ml)/组织或植物质量×100%

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、建议每次测定时都做标准曲线, 以使标准更准确, 另外标准品需避免反复冻融。
- 3、如果没有酶标仪, 也可以使用普通的分光光度计测定, 但应注意比色杯的最小检测体积。
- 4、所测样品的值高于标准曲线的上限, 应用 ACPAssaybuffer 稀释样品后重新测定。
- 5、待测样品中酸性磷酸酶活性较低时, 可适当延长孵育时间至 30min。
- 6、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。