

使用说明书

Instruction Manual

酸性磷酸酶(ACP)活性检测试剂盒（微量法） Acid Phosphatase Assay Kit (Microanalysis)

产品描述

酸性磷酸酶 (Acid Phosphatase, ACP) 在酸性条件下催化磷酸单酯水解成无机磷酸，常见于巨噬细胞的溶酶体内，常用于前列腺癌的辅助诊断。

检测原理

在酸性环境中，ACP 催化磷酸苯二钠水解生成苯酚，苯酚与 4-氨基安替比林和铁氰化钾反应生成红色亚醌衍生物，在 510nm 有特征光吸收；通过测定 510nm 吸光度增加速率，来计算 ACP 活性。

产品组成及储存条件

100T/48S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0009M-A	60mL×1 瓶	4℃保存。
CB0009M-B	5mL×1 瓶	4℃避光保存。
CB0009M-C	5mL×1 瓶	4℃避光保存。
CB0009M-D	15mL×1 支	4℃避光保存，变成蓝绿色不能使用。
CB0009M-Standard	1mL×1 支	标准品：2μmol/mL 酚标准液，4℃保存。

注：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

操作说明

一、自备用品：

分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、水浴锅、可调式移液枪、研钵、冰和双蒸水。

二、粗酶液提取：

- 组织:按照组织质量(g):CB0009M-A 体积(mL)为 1:5-10 的比例(建议称取约 0.1g 组织,加入 1mL CB0009M-A)进行冰浴匀浆。4℃、10000rpm 离心 10min，取上清液待测。
- 血液可直接测定，或者适当稀释后测定。

三、测定步骤：

- 分光光度计/酶标仪预热30 min，调节波长到510nm，蒸馏水调零。
- CB0009M-B 置于37℃水浴中预热30 min。
- 在 EP 管中按列表中顺序加入上述试剂：

试剂名称	空白管 (μL)	标准管 (μL)	对照管 (μL)	测定管 (μL)
上清液				5
标准品		5		
蒸馏水	5			
CB0009M-B	40	40	40	40
CB0009M-C	40	40	40	40
混匀后置于 37°C水浴中保温 15min。				
CB0009M-D	120	120	120	120
必须立即混匀，否则显色不完全。				
上清液			5	
混匀后于 510nm 测定吸光度。				
	记为：A 空白管。	记为：A 标准管。	记为：A 对照管。	记为：A 测定管。

注：空白管和标准管只需要测定 1-2 次。

四、ACP 活性计算：

1. 血液中ACP 活性计算

活性单位定义：37°C中每毫升血液每分钟催化产生 1μmol 酚定义为1 个酶活单位。

$$\text{ACP 活力(U/mL)} = [\text{C 标准品} \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V 反总}] \div \text{V 样} \times \text{V 样总} \div \text{T} \\ = 6.8 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})$$

2. 组织中ACP 活性计算

(1) 按照蛋白浓度计算

活性单位定义：37°C中每毫克蛋白每分钟催化产生 1μmol 酚定义为1 个酶活单位。

$$\text{ACP (U/mg prot)} = [\text{C 标准品} \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V 反总}] \div (\text{Cpr} \times \text{V 样}) \div \text{T} \\ = 6.8 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{Cpr}$$

(2) 按照样本质量计算

活性单位定义：37°C中每克组织每分钟催化产生 1μmol 酚定义为1 个酶活单位。

$$\text{ACP (U/g)} = [\text{C 标准品} \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V 反总}] \div (\text{W} \times \text{V 样} \div \text{V 样总}) \div \text{T} \\ = 6.8 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W}$$

注：C 标准品：2μmol/mL；V 反总：反应体系总体积(mL)，204μL=0.204 mL；V 样：加入反应体系中上清液体积 (mL)，0.004mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间 (min)，15 min；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白浓度。

注意事项

1. CB0009M-B，CB0009M-C，CB0009M-D 需 4°C避光保存。
2. CB0009M-D 变成蓝绿色不能使用。
3. 加入 CB0009M-D 后必须立即混匀，否则显色不完全。
4. 蛋白定量测定，建议使用 TargetMol 生产的 BCA Protein Quantification Kit (C0050)。
5. ACP 不稳定，尤其在 37°C和 pH 大于 7 的条件下活力丧失快，因此酸性磷酸酶样品一般需当天准备；血清样品中，每毫升血清中加入 10mg 柠檬酸氢二钠或者 5mg 硫酸氢钠，使 pH 降至 6.5 以下，或 5mL 血清加入 30%醋酸溶液 2-3 滴，置于 4°C可保存 1 周。
6. 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。
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

