

使用说明书

Instruction Manual

酸性磷酸酶(ACP)活性检测试剂盒（分光光度法）

Acid Phosphatase Assay Kit (Spectrophotometry)

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

50T/24S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0009S-A	30mL ×1 瓶	4℃保存。
CB0009S-B	10mL ×1 瓶	4℃避光保存。
CB0009S-C	10mL ×1 瓶	4℃避光保存。
CB0009S-D	30mL ×1 支	4℃避光保存，变成蓝绿色不能使用。
CB0009S-Standard	液体×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：

紫外分光光度计、1mL 玻璃比色皿、水浴锅、可调式移液枪、研钵、冰和双蒸水。

二、粗酶液提取：

1. 组织：按照组织质量 (g) : CB0009S-A 体积(mL)为 1: 5-10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL CB0009S-A）进行冰浴匀浆。10000rpm，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
2. 血液可直接测定，或者适当稀释后测定。

三、测定步骤：

1. 分光光度计预热 30 min，调节波长到510nm，蒸馏水调零。
2. CB0009S-B 置于37℃ 水浴中预热30 min。
3. 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				20
标准品		20		
蒸馏水	20			
CB0009S-B	200	200	200	200
CB0009S-C	200	200	200	200
混匀后置于 37°C 水浴中保温 15min。				
CB0009S-D	600	600	600	600
必须立即混匀, 否则显色不完全。				
上清液			20	
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. 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 1 μmol 酚定义为 1 个酶活单位。

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

(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 1 μmol 酚定义为 1 个酶活单位。

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

注: C 标准品: 2 μmol/mL; V 反总: 反应体系总体积 (mL), 1020 μL = 1.02 mL; Cpr: 粗酶液蛋白质浓度 (mg/mL); V 样: 加入反应体系中上清液体积 (mL), 0.020 mL; V 样总: 加入提取液体积, 1 mL; W: 样本质量, g; T: 反应时间 (min), 15 min。

2. 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 1 μmol 酚定义为 1 个酶活单位。

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

注: C 标准品: 2 μmol/mL; V 反总: 反应体系总体积 (mL), 1020 μL = 1.02 mL; V 样: 加入反应体系中上清液体积 (mL), 0.020 mL; V 样总: 加入提取液体积, 1 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度 (mg/mL), 需另外测定; W: 样本质量, g; T: 反应时间 (min), 15 min。

注意事项

- CB0009S-B, CB0009S-C, CB0009S-D 需 4°C 避光保存, 若 CB0009S-D 变成蓝绿色则不能使用。
- 加入 CB0009S-D 后必须立即混匀, 否则显色不完全。
- 蛋白定量测定, 建议使用 TargetMol 生产的 BCA Protein Quantification Kit (C0050)。
- 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。
- 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。

