

酸性磷酸酶(ACP)检测试剂盒(磷酸苯二钠微板法)

产品简介:

酸性磷酸酶(acid phosphatase, 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)(Acid Phosphatase Colorimetric Assay Kit)检测原理是以磷酸苯二钠为底物, 在酸性磷酸酶(ACP)作用下被水解生成酚和无机磷。在碱性条件下, 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, 通过酶标仪测定 510nm 处吸光度, 可以计算出样品酸性磷酸酶的活性。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 \ 编号	BN27210 100T	Storage
试剂(A): Phenol(10mM)	1ml	4°C 避光
试剂(B): 酸性基液	6ml	4°C
试剂(C): ACP Assay buffer	3ml	4°C 避光
试剂(D): 碱性基液	18ml	RT
试剂(E): ACP 显色基液	3ml	4°C 避光
试剂(F): ACP 显色液	3ml	RT 避光
使用说明书	1 份	

自备材料:

- 1、蒸馏水、生理盐水或 PBS
- 2、离心管或试管、离心机、恒温箱或水浴锅、96 孔板、酶标仪

操作步骤(仅供参考):

- 1、准备样品:

本产品仅用于科研

TEL: 010-82422342 www.biorigin.Ltd

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 10^6 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 ACP Assay buffer 稀释。

2、稀释标准品：取适量的 Phenol(10mM)和蒸馏水，按下表稀释：

加入物(单位：μl)	1	2	3	4	5
Phenol(10mM)	10	20	30	40	50
蒸馏水	990	980	970	960	950
相当于酚的浓度(c, nmol/ml)	100	200	300	400	500

3、ACP 加样：取小离心管，依次加入待测样品 0.03ml、水 0.18ml、酸性基液 0.06ml 和 ACP Assay buffer 0.03ml，37℃水浴 15min，经处理后的样品立即用于检测 ACP 活性。再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，并且每加一种试剂均应混匀。如果样品中的 ACP 活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行检测，样品的检测最好能设置 2 平行孔，求平均值。

加入物(单位：μl)	空白孔	标准孔	测定孔
蒸馏水	50	—	—
系列 Phenol 标准	—	50	—
经处理的待测样品	—	—	50
碱性基液	150	150	150
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 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{测定}}$)，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，每分钟每毫升酶液产生 1nmol 酚 (nmol/ml·min)为一个活性单位。以标准孔吸光度为纵坐标，酚浓度为横坐标，绘制酚浓度

的标准曲线。根据待测样品的吸光度值，计算出相应的酚浓度，根据公式计算 ACP 活性。

$$\text{ACP 活性} = c/t$$

其中：c=根据样品吸光度值计算得出的酚浓度(nmol/ml)

t=样品的处理时间=15(min)

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、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。
- 3、所测样品的值高于标准曲线的上限，应用蒸馏水稀释样品后重新测定。
- 4、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。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：6 个月有效。常温运输，4℃保存。