

酸性磷酸酶(ACP)检测试剂盒(磷酸苯二钠比色法)

产品编号: MA1533

规格: 50T

产品组成和保存/运输条件

产品组成	MA1533-1 50T	保存条件	有效期	运输条件
Phenol(10mM)	1mL	2-8℃, 避光	自生产之日 6 个月	湿冰运输 (按季节)
酸性基液	5mL	2-8℃		
ACP Assay buffer	3mL	2-8℃, 避光		
碱性基液	80mL	RT		
ACP 显色基液	15mL	2-8℃, 避光		
ACP 显色液	15mL	RT, 避光		
说明书	1 份			

产品简介

酸性磷酸酶 (acid phosphatase, ACP) 在机体组织中分布广泛, 主要定位于细胞溶酶体, 是溶酶体的特征性标志酶, 少量分布于内质网与细胞质中。ACP 的最适反应 pH 为 4.5–5.5, 属于多亚型蛋白家族, 哺乳动物 ACP 分子量介于 18–100 kD。根据酶学特性可分为酒石酸盐敏感型与氟离子敏感型两类, 其中溶酶体 ACP 为酒石酸盐敏感型, 红细胞及巨噬细胞来源的 ACP 则为氟离子敏感型, 且不同动物的 ACP 特性存在一定差异。

酸性磷酸酶(ACP)检测试剂盒(磷酸苯二钠比色法), 即 Acid Phosphatase(S-ACP) Assay Kit, 以磷酸苯二钠为特异性底物, 底物可在 ACP 催化作用下水解, 生成苯酚与无机磷。在碱性环境中, 生成的苯酚可与 4-AAP 发生反应, 经氧化后形成红色醌类化合物, 溶液红色深浅与样本中 ACP 活性呈正相关。通过检测 510 nm 波长处的吸光度值, 即可精准计算样本的酸性磷酸酶活性。该试剂盒主要适用于血清中前列腺酸性磷酸酶活性检测, 同时可检测细胞与组织裂解液、组织匀浆液、血浆、尿液等样本中的内源性 ACP 活性。

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、比色杯、分光光度计

使用方法(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 10^6 以上, 组织应在 100mg 以上, 3000-4000×g 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, 4000×g 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(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

4. ACP 加样：取小离心管，依次加入待测样品 0.05mL、水 0.3mL、酸性基液 0.1mL 和 ACP Assay buffer 0.05mL，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测定，样品的检测最好能设置 2 平行孔，求平均值。

加入物(mL)	空白孔	标准孔	测定孔
蒸馏水	0.5	—	—
系列 Phenol 标准溶液	—	0.5	—
经处理的待测样品	—	—	0.5
碱性基液	1.5	1.5	1.5
ACP 显色基液	0.25	0.25	0.25
ACP 显色液	0.25	0.25	0.25

5. ACP 测定：轻轻混匀，室温放置 10min，空白孔调零，分光光度计测定 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。

6. 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

- 待测样品中不能含有磷酸酶抑制剂，同时需避免反复冻融。
- 如果没有分光光度计，也可以使用普通的酶标仪测定。
- 所测样本的值高于标准曲线的上限，应用 ACP Assay buffer 稀释样品后重新测定。
- 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。
- 所有试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 本产品仅限科研实验使用，禁止用于临床、食品、化妆品等非科研场景。

S260801

