

## 酸性磷酸酶（ACP）检测试剂盒（磷酸苯二钠比色法）

产品货号：BA1705

产品规格：50T

### 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(磷酸苯二钠比色法)(Acid Phosphatase Colorimetric Assay Kit)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：

试剂名称	50T	保存条件
试剂(A): Phenol(10mM)	1ml	2-8℃, 避光
试剂(B): 酸性基液	5ml	室温
试剂(C): ACP Assay buffer	3ml	2-8℃, 避光
试剂(D): 碱性基液	80ml	室温
试剂(E): ACP显色基液	15ml	2-8℃, 避光
试剂(F): ACP显色液	15ml	室温, 避光

### 自备材料：

1. 蒸馏水
2. 离心管或试管
3. 水浴锅或恒温箱
4. 比色杯
5. 分光光度计

### 操作步骤：

#### 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, 3000~4000g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,



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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: 按照下表设置空白管、标准管、测定管, 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平行管, 求平均值。

加入物 (ml)	空白管	标准管	测定管
蒸馏水	0.05	-	-
系列 Phenol 标准	-	0.05	-
待测样品	-	-	0.05
酸性基液	0.1	0.1	0.1
ACP Assay buffer	0.05	0.05	0.05
37℃准确保温15min。			
碱性基液	1.8	1.8	1.8
ACP 显色基液	0.25	0.25	0.25
ACP 显色液	0.25	0.25	0.25

4. ACP测定: 轻轻混匀, 室温放置10min, 空白管调零, 比色杯光径1cm, 分光光度计测定510nm处标准管、测定管的吸光度(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, 以各标准管吸光度为纵坐标, 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:

- 待测样品中不能含有磷酸酶抑制剂, 同时需避免反复冻融。
- 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。
- 如果没有分光光度计, 也可以使用普通的酶标仪测定, 但应注意96孔板最大检测体积。
- 所测样品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。
- 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。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com