

组织及血液酸性磷酸酶（ACP）活性检测试剂盒说明书

微量法

货号：AC10389

规格：100T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 50 mL×1 瓶	4°C保存
试剂一	液体 5 mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	4°C保存
试剂三	液体 15 mL×1 瓶	4°C保存
标准品	液体 1 mL×1 支	4°C保存

溶液的配制：

- 1、标准品：10 μ mol/mL 酚标准液，临用前蒸馏水稀释至 2.5 μ mol/mL 备用。

产品说明：

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

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。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：**一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）**

组织样本：称取约 0.1g 组织，加提取液 1mL 充分研磨，4°C，10000rpm 离心 10min，取上清液待测。

血浆（血清）：血液可直接用于测定，如果浓度高的话，用提取液稀释。

二、测定步骤

1、分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长到 510nm，蒸馏水调零。

2、试剂一置于 37°C 水浴中预热 30min 以上。

3、操作表：

试剂名称（ μ L）	测定管	对照管	空白管	标准管
蒸馏水	-	-	20	-
标准品	-	-	-	20

上清液	20	-	-	-
试剂一	40	40	40	40
试剂二	40	40	40	40
混匀后置于 37°C 水浴中保温 15min				
试剂三	120	120	120	120
上清液	-	20	-	-
混匀后于 510nm 测定吸光度，分别记为 A 测定管、A 对照管、A 空白管、A 标准管。				

三、ACP 活性计算

1、按蛋白浓度计算

活性单位定义：37°C 中每毫克蛋白每分钟催化产生 1 μmol 酚为一个酶活力单位。

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

$$= 0.167 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{Cpr}$$

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 酚为一个酶活力单位。

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

$$= 0.167 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W}$$

3、按血液体积计算

活性单位定义：37°C 中每毫升血液每分钟催化产生 1 μmol 酚为一个酶活力单位。

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

$$= 0.167 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})$$

C 标准品：标准品浓度，2.5 μmol/mL；V 样：加入反应体系中上清液体积，0.02 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；

T：反应时间，15 min；V 提取：加入提取液体积，1 mL；W：样本质量，g。

注意事项：

- 1、试剂一、试剂二和试剂三均需避光保存。
- 2、试剂三变蓝绿色后不能再使用。
- 3、加入试剂三后必须立即混匀，否则显色不完全。
- 4、ACP 不稳定，尤其在 37°C 和 pH 大于 7 的条件下活力丧失快，因此酸性磷酸酶样本一般需当天准备；血清样本中，每毫升血清中加入 10 mg 柠檬酸氢二钠或者 5 mg 硫酸氢钠，使 pH 降至 6.5 以下，或 5 mL 血清加入 30% 醋酸溶液 2~3 滴，置于 4°C 可保存 1 周。

实验实例：

- 1、取 0.1 g 肝脏加入 1 mL 提取液进行匀浆研磨，取上清后按照测定步骤操作，使用 96 孔板测得计算 A 测定管 = 0.375、A 对照管 = 0.054、A 空白管 = 0.047、A 标准管 = 0.340，按样本质量计算酶活：

$$\text{ACP 酶活 (U/g 质量)} = 0.167 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W} = 0.167 \times (0.375 - 0.054) \div (0.340 - 0.047) \div 0.1 = 1.830 \text{ U/g 质量。}$$

- 2、取 0.1 g 三叶草叶加入 1 mL 提取液进行匀浆研磨，取上清后按照测定步骤操作，使用 96 孔板测得计算 A 测定管 = 0.079、A 对照管 = 0.051、A 空白管 = 0.047、A 标准管 = 0.340，按样本质量计算酶活：

ACP 酶活 (U/g 质量) = $0.167 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \div W = 0.167 \times (0.079 - 0.051) \div (0.340 - 0.047) \div 0.1 = 0.160 \text{ U/g 质量}$ 。