

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。

源叶生物 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(A): Phenol(1mg/ml)	1ml	4℃ 避光
试剂(B): 酸性基液	1.5ml	RT
试剂(C): ACP Assay buffer	1ml	-20℃ 避光
试剂(D): 碱性基液	20ml	RT
试剂(E): ACP 显色基液	3ml	4℃ 避光
试剂(F): ACP 显色液	3ml	RT 避光

自备材料：

- 1、蒸馏水
- 2、离心管或试管
- 3、水浴锅
- 4、96 孔板
- 5、酶标仪

操作步骤(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，用于酸性磷酸酯酶的检测。
- ②□细胞或组织样品：取恰当细胞或组织裂解液，如果有必要需进行适当匀浆，低速离心取上清，-20℃冻存，用于酸性磷酸酯酶的检测。
- ③□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(1mg/ml)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(1mg/ml)	0	5	10	15	20	25
蒸馏水	50	45	40	35	30	25
相当于 ACP 活性(U/L)	0	10	20	30	40	50

3、配制 ACP 检测工作液：取适量的 ACP Assay buffer 和 TMP buffer，等量混合，即为 ACP 检测工作液。4℃保存，一个月有效。

4、ACP 加样：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 平行孔，求平均值。

加入物(μl)	空白孔	标准孔	测定孔
蒸馏水	5	—	—
系列 Phenol 标准	—	5	—
待测样品	—	—	5
酸性基液	10	10	10
ACP Assay buffer	5	5	5
37℃准确保温 15min，依次加入下列溶液，每加一种均应混匀。			
碱性基液	180	180	180
ACP 显色基液	25	25	25
ACP 显色液	25	25	25

5、ACP 检测：轻轻混匀，室温放置 10min，空白孔调零，酶标仪检测 510nm 处吸光度。一般应数小时内检测完毕。

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，以各标准管吸光度值为纵坐标，相应的酚含量为横坐标绘制酚含量-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酚含量，乘以稀释倍数后，换算为“ nmol/ml·min” 的活性单位。

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、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。
- 3、如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定。
- 4、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。
- 5、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。
- 6、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：12 个月有效。