



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

酸性磷酸酶(ACP)检测试剂盒(Folin-酚比色法)

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 值为 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(Folin-酚比色法)(Acid Phosphatase Colorimetric Assay Kit)检测原理是以磷酸苯二钠作为底物,在酸性条件下 ACP 催化底物水解生成苯酚和无机磷,通过 Folin-酚(又称福林酚)测定苯酚的生成量,于分光光度计或酶标仪 680nm 处检测吸光度,以酶促反应时间为横坐标,以产物生成量为纵坐标绘制进程曲线,曲线的起始部分在某一段时间内呈直线,其斜率代表酶促反应的初速度,随着反应时间延长曲线斜率不断下降,因此测定 ACP 酶活力应该在进程曲线的初速度时间范围内进行,主要用于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,不适用于临床诊断或其他用途。

组成:

名称 \ 编号	R30303 50T	R30303 100T	Storage
试剂(A): Phenol(10mM)	1ml	1ml	4℃ 避光
试剂(B): 样品稀释液	50ml	100ml	4℃
试剂(C): ACP Assay Buffer	0.6ml	1.2ml	4℃ 避光
试剂(D): ACP 终止液	125ml	250ml	RT



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

试剂(E): Folin-酚显色液	4.5ml	9ml	4℃ 避光
使用说明书	1 份		

自备材料:

- 1、蒸馏水
- 2、离心管或试管
- 3、水浴锅或恒温箱
- 4、比色杯或 96 孔板
- 5、分光光度计或酶标仪

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该试剂盒的测定, 尿液通常也可以直接用于测定, -20℃冻存, 用于 ACP 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 NS 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 ACP 的检测。

③植物样品: 取适量的组织加入 NS 或 PBS, 充分捣碎或研磨, 静置 30min, 用纱布或滤纸过滤, 4000g 离心 20min, 取上清液并测量体积, -20℃冻存, 用于 ACP 的检测。

④高活性样品: 可以使用样品稀释液、PBS 或 NS 稀释含有较高活性的样品后再行检测。

2、配制 ACP Assay 工作液: 取 ACP Assay Buffer 温浴溶解, 按 ACP assay Buffer: 样品稀释液=1: 19 的比例混合, 即为 ACP Assay 工作液。

3、配制 Folin-酚显色工作液: 按 Folin-酚显色液: 蒸馏水=1: 2 的比例混合即成。



4、稀释标准品：按 Phenol(10mM)：样品稀释液=1：24 的比例配制标准工作液，即 Phenol(0.4mM)，按下表梯度稀释。

加入物(μl)	1	2	3	4	5
Phenol(0.4mM)	50	100	150	200	250
样品稀释液	450	400	350	300	250
Phenol 浓度(mM)	0.04	0.08	0.12	0.16	0.2

5、ACP 加样：按照下表设置空白管、标准管、测定管、对照管(选做)，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)(提前 35℃ 预热)	空白管	标准管	测定管	对照管
样品稀释液	0.5	—	—	—
系列 Phenol 标准	—	0.5	—	—
ACP Assay 工作液	—	—	0.25	0.25
待测样品	—	—	0.25	—
摇匀，立即计时，35℃ 精确反应 10min，立即加入 ACP 终止液终止反应。 空白管和标准管直接进行下边操作。				
ACP 终止液	2.5	2.5	2.5	2.5
Folin-酚显色工作液	0.25	0.25	0.25	0.25
待测样品	—	—	—	0.25
摇匀，35℃ 保温显色 10min 以上。				

6、ACP 测定：以空白管(或对照管)调零，比色杯光径 1cm，分光光度计测定 680nm 处标准管和测定管的吸光度(记为 $A_{\text{标准}}$ 和 $A_{\text{测定}}$)。

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 1μmol 酚 (nmol/ml · min)所需的酶量为一个活性单位；以各标准管的吸光度为纵坐标，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



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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。

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:

- 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 孔板的最大检测体积；虽然酶标仪可以检测，但源叶生物推荐采用分光光度计。
- 4、注意单次少测几个样品，以免样品过多导致的时间差异较大。
- 5、所测样品的值高于标准曲线的上限，应用样品稀释液、PBS 或 NS 稀释样品后重新测定。
- 6、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。

有效期: 6 个月有效；常温运输，4℃ 保存。