



酸性磷酸酶（ACP）活性检测试剂盒

**Acid Phosphatase (ACP) Activity Assay Kit**

**Disodium Phenyl Phosphate**



**Acid Phosphatase (ACP)**

Free Phenol



4-Aminoantipyrine  
Potassium Ferricyanide

**Red Quinone Derivatives**

北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## 酸性磷酸酶（ACP）活性检测试剂盒

## Acid Phosphatase (ACP) Activity Assay Kit

## 一、产品描述

酸性磷酸酶（ACP）是一种非特异性磷酸单酯酶，可催化大部分磷酸单酯水解反应，生成无机磷酸和相应的醇、酚和糖等，还可以催化磷酸基团的转移反应，直接参加磷代谢，并在钙、磷的消化、吸收和分泌过程中发挥重要作用。诱导并分泌酸性磷酸酶是植物应对低磷环境的重要适应性反应之一，血清酸性磷酸酶活性已成为诊断和监测多种疾病重要手段。

酸性磷酸酶在酸性环境中催化磷酸苯二钠生成游离酚，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，产物在 510 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征酸性磷酸酶的活性。

## 二、产品内容

| 名称                                                                                   | 试剂规格         | 储存条件    | 使用方法及注意事项       |
|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------|---------|-----------------|
| 试剂一                                                                                  | 液体 60 mL×1 瓶 | 4°C保存   | -               |
| 试剂二                                                                                  | 液体 15 mL×1 瓶 | 4°C避光保存 | -               |
| 试剂三                                                                                  | 液体 30 mL×1 瓶 | 4°C避光保存 | -               |
| 试剂四                                                                                  | 液体 45 mL×1 瓶 | 4°C避光保存 | 变为蓝绿色则停止使用      |
| 标准液                                                                                  | 液体 1 mL×1 支  | 4°C避光保存 | 50 μmol/mL 酚标准液 |
| 标准稀释液的制备（现用现配）：使用前将 50 μmol/mL 酚标准液使用蒸馏水稀释至 8.0、6.0、4.0、2.0、1.0、0.5 μmol/mL 即为标准稀释液。 |              |         |                 |

| 序号             | 1   | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   |
|----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 稀释前浓度（μmol/mL） | 50  | 50  | 50  | 4.0 | 2.0 | 1.0 |
| 标准液体积（μL）      | 160 | 120 | 80  | 200 | 200 | 200 |
| 蒸馏水体积（μL）      | 840 | 880 | 920 | 200 | 200 | 200 |
| 稀释后浓度（μmol/mL） | 8.0 | 6.0 | 4.0 | 2.0 | 1.0 | 0.5 |

## 三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

## 1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按细菌或细胞数量（ $10^4$  个）：试剂一体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

③血液、培养液等液体样本：直接检测或使用试剂一适当稀释后再进行检测。

## 2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 510 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

| 试剂                  | 测定管<br>( $\mu$ L) | 对照管<br>( $\mu$ L) | 标准管<br>( $\mu$ L) | 空白管<br>( $\mu$ L) |
|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 粗酶液                 | 20                | -                 | -                 | -                 |
| 标准稀释液               | -                 | -                 | 20                | -                 |
| 蒸馏水                 | -                 | -                 | -                 | 20                |
| 试剂一                 | 200               | 200               | 200               | 200               |
| 试剂二                 | 200               | 200               | 200               | 200               |
| 充分混匀，37℃准确反应 15 min |                   |                   |                   |                   |
| 试剂三                 | 400               | 400               | 400               | 400               |
| 试剂四                 | 600               | 600               | 600               | 600               |
| 粗酶液                 | -                 | 20                | -                 | -                 |
| 立即充分混匀，室温显色 10 min  |                   |                   |                   |                   |

注：加入试剂四后应立即充分混匀，否则会造成显色不完全

**吸光值测定：**吸取 1 mL 反应液至 1 mL 玻璃比色皿中，测定 510 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个样品均需设一个对照管，各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

**标准曲线的建立：**以 8.0、6.0、4.0、2.0、1.0、0.5  $\mu$ mol/mL 为横坐标（x），以其对应的  $\Delta A_{\text{标准}}$  为纵坐标（y），绘制标准曲线，得到线性回归方程  $y=kx+b$ ，将  $\Delta A_{\text{测定}}$  代入方程中得到 x（ $\mu$ mol/mL）。

### 3.酸性磷酸酶（ACP）活性计算

#### ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：37℃条件下，每 mg 组织蛋白每分钟催化生成 1 μmol 酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACP (U/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{样}}}{\text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{0.0667 \times x}{\text{Cpr}}$$

#### ②按组织样本质量计算

单位定义：37℃条件下，每 g 组织样本每分钟催化生成 1 μmol 酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACP (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{提}}}{W \times T} = \frac{0.0667 \times x}{W}$$

#### ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：37℃条件下，每 10<sup>4</sup> 个细菌或细胞每分钟催化生成 1 μmol 酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACP (U/10}^4\text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{提}}}{\text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{0.0667 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

#### ④按液体样本体积计算

单位定义：37℃条件下，每 mL 液体样本每分钟催化生成 1 μmol 酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACP (U/mL)} = \frac{x \times V_{\text{样}}}{V_{\text{样}} \times T} = 0.0667 \times x$$

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL；W：样本质量，g；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；细菌或细胞数量：以万计，若 500 万细菌或细胞则代入 500 即可；T：酶促反应时间，15 min。

### 四、注意事项

- ①反应过程中加入试剂四后必须立即充分混匀，否则会导致显色不完全；
- ②粗酶液制备完成后需置于冰上放置，且当天完成活性检测；
- ③若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将粗酶液使用**试剂一**适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量或延长 37℃准确反应时间后再进行测定，计算时相应修改；
- ④试剂四颜色应为黄色，变为蓝绿色则已失效应停止使用；
- ⑤为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

