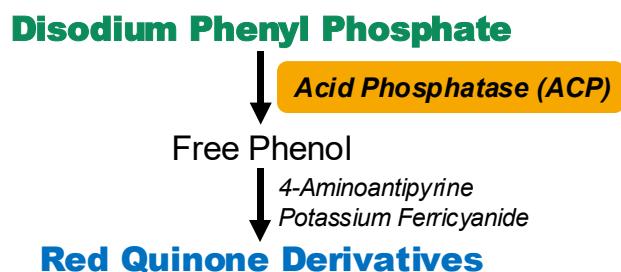




## 酸性磷酸酶 (ACP) 活性检测试剂盒

### Acid Phosphatase (ACP) Activity Assay Kit



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-氨基安替比林和铁氯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 130 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 8 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
试剂三	液体 15 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
试剂四	液体 25 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	<b>50 μmol/mL 酚标准液</b>

**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 10、8.0、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	8.0	4.0	2.0	1.0
标准液体积 (μL)	200	160	200	200	200	200
蒸馏水体积 (μL)	800	840	200	200	200	200
稀释后浓度 (μmol/mL)	10	8.0	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：酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、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°C 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<sup>4</sup> 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°C 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酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 510 nm。

②在 96 孔板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 ( $\mu$ L)	对照组 ( $\mu$ L)	标准组 ( $\mu$ L)	空白组 ( $\mu$ L)
粗酶液	5	-	-	-
标准稀释液	-	-	5	-
蒸馏水	-	-	-	5
试剂一	30	30	30	30
试剂二	30	30	30	30
充分混匀，37°C准确反应 15 min				
试剂三	60	60	60	60
试剂四	90	90	90	90
粗酶液	-	5	-	-
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：**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  $\Delta A$  测定 = A 测定 - A 对照， $\Delta A$  标准 = A 标准 - A 空白。注：每个样品均需设一个对照组，各浓度标准组和空白组只需测定 1-2 次。

**标准曲线的建立：**以 10、8.0、4.0、2.0、1.0、0.5  $\mu$ mol/mL 为横坐标 (x)，以其对应的  $\Delta A$  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  $\Delta A$  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°C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。

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

#### ② 按组织样本质量计算

单位定义：37°C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。

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

#### ③ 按细菌或细胞数量计算

单位定义：37°C条件下，每  $10^4$  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。

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

#### ④ 按液体样本体积计算

单位定义：37°C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。

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

注释：V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.005 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°C 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.

