



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

510nm

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，可催化几乎所有的磷酸单酯水解反应，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。

酸性磷酸酶能够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，通过吸光值增加速率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 100 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂三	液体 10 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂四	液体 15 mL×1 瓶	4°C避光保存	变成蓝绿色则停止使用
标准液	液体 1.0 mL×1 支	4°C避光保存	50 $\mu\text{mol/mL}$ 酚标准液
标准稀释液的制备：将 50 $\mu\text{mol/mL}$ 酚标准液使用蒸馏水稀释至 10、8、4、2、1、0.5 $\mu\text{mol/mL}$ 即为标准稀释液。			

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)	50	50	8	4	2	1
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 ($\mu\text{mol/mL}$)	10	8	4	2	1	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/酶标仪、微量玻璃比色皿/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℃ 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：按照细菌或细胞数量（ 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，冰浴超声破碎细菌或细胞（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血液、培养液等液体样本：直接测定或使用试剂一适当稀释后再进行测定。

2.测定步骤

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

②在 96 孔板/微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μ L)	对照组 (μ L)	标准组 (μ L)	空白组 (μ 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℃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				

吸光值测定：测定 510 nm 处测定吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定 = A 测定 - A 对照， ΔA 标准 = A 标准 - A 空白。注：空白组只需测定 1-2 次，每个测定组均需设一个对照组。

标准曲线的建立：以 10、8、4、2、1、0.5 μ mol/mL 为横坐标（x），以其对应的 ΔA 标准为纵坐标（y），绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到 x（ μ 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℃中每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 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℃中每 g 组织每分钟催化产生 1 μmol 酚定义为一个酶活力单位。

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

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：37℃中每 10⁴ 个细菌或细胞每分钟催化产生 1 μmol 酚定义为一个酶活力单位。

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

④按液体样本体积计算

单位定义：37℃中每 mL 液体样本每分钟催化产生 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，0.005 mL；V 提取：粗酶液总体积，1 mL；T：反应时间，15 min；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；细菌或细胞数量：以万计。

四、注意事项

①加入试剂三后必须立即混匀，否则显色不完全；

②待测样本需当天制备且完成检测；

③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.

