

## 组织及血液酸性磷酸酶(ACP)活性检测试剂盒

# (可见分光光度法)

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号: BA1483

产品规格: 50管/24样

## 产品内容:

提取液: 液体30mL×1瓶, 4℃保存。

试剂一:液体10mL×1瓶,4℃避光保存。 试剂二:液体10mL×1瓶,4℃避光保存。

试剂三:液体30mL×1瓶,4℃避光保存,变成蓝绿色不能使用。

标准品:液体1mL×1支,2μmol/mL 酚标准液,4℃保存。临用前蒸馏水稀释至 0.5μmol/mL备用。

### 产品说明:

ACP在酸性条件下催化磷酸单酯水解称无机磷酸,常见于巨噬细胞的溶酶体内。ACP常用于前列腺癌的辅助诊断。

在酸性环境中,ACP催化磷酸苯二钠水解生成苯酚,苯酚与4-氨基安替和铁氰化钾反应生成红色亚醌衍生物,在510nm有特征光吸收;通过测定510nm吸光度增加速率,来计算ACP活性。

## 需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、冰和蒸馏水。

## 操作步骤:

### 一、粗酶液提取:

称取约0.1g组织,加提取液1mL充分研磨,4 ℃、10000rpm离心10min,取上清液待测。血液可直接用于测定,如果浓度高的话,用提取液稀释。

## 二、测定步骤:

- 1. 分光光度计预热30min以上,调节波长到510nm,蒸馏水调零。
- 2. 试剂一置于37℃水浴中预热30min以上。

试剂名称(μL)	测定管	对照管	空白管	标准管
蒸馏水	-	-	100	-
0.5μmol/mL 标准品	-	-	-	100
上清液	100	-	-	-
试剂一	200	200	200	200
试剂二	200	200	200	200
混匀后置于 37℃水浴中保温 15min				
试剂三	600	600	600	600
上清液	-	-	-	-





混匀后于510 nm测定吸光度,分别记为A测定管、A对照管、A空白管、A标准管。

### 三、ACP 活性计算:

1. 按蛋白浓度计算

活性单位定义: 37℃中每毫克蛋白每分钟催化产生1µmol酚。

ACP(U/mg pr)=[C标准品×(A测定管-A对照管)÷(A标准管-A空白管)×V样]÷(Cpr×V样)÷T =0.033×(A测定管-A对照管)÷(A标准管-A空白管) ÷Cpr

2. 按样本鲜重计算

活性单位定义: 37℃中每克组织每分钟催化产生1 µmol酚。

ACP活力(U/g)=[C标准品×(A测定管-A对照管)÷(A标准管-A空白管)×V样]÷(W÷V提取×V样)÷T=0.033×(A测定管-A对照管)÷(A标准管-A空白管)÷W

3. 血液中ACP活性计算

活性单位定义: 37℃中每毫升血液每分钟催化产生1µmol酚。

ACP活力(U)=[C标准品×(A测定管-A对照管)÷(A标准管-A空白管)×V样]÷V样÷T

=0.033×(A测定管-A对照管)÷(A标准管-A空白管)

C标准品: 0.5μmol/mL; V样: 加入反应体系中上清液体积(mL), 0.1mL; V样总: 1mL; T: 反应时间(min), 15min; V提取: 加入提取液体积, 1mL; W: 样本鲜重, g。

#### 注意事项:

- 1、 试剂一、试剂二和试剂三均需避光保存。
- 2、 试剂三变蓝绿色后不能再使用。
- 3、 加入试剂三后必须立即混匀, 否则显色不完全。
- 4、ACP不稳定,尤其在37℃和pH大于7的条件下活力丧失快,因此酸性磷酸酶样品一般需当天准备;血清样品中,每毫升血清中加入10mg柠檬酸氢二钠或者5mg硫酸氢钠,使pH降至6.5以下,或5ml血清加入30%醋酸溶液2~3滴,置于4℃可保存1周。