

酸性磷酸酶 (ACP) 检测试剂盒 (PNP微板法)

产品货号: BA1703

产品规格: 60T/120T

产品简介:

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。

酸性磷酸酶(ACP)检测试剂盒(PNP微板法)(Acid Phosphatase Colorimetric Assay Kit)检测原理是利用Para-nitrophenyl phosphate(pNPP)为一种常用的磷酸酶显色底物, 在酸性条件下, 可在酸性磷酸酶的作用下生成p-nitrophenol。在碱性条件下p-nitrophenol呈黄色, 产物黄色越深, 说明酸性磷酸酶活性越高, 反之则酶活性越低, 通过分光光度比色法测定400~415nm处吸光度, 据此通过比色分析就可以计算出酸性磷酸酶活性水平。该试剂盒可用于检测细胞或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, 不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

产品名称	60T	120T	保存条件
试剂(A): ACP Assay buffer	7.5ml	15ml	2-8℃
试剂(B): pNPP	1支	2支	-20℃, 避光
试剂(C): p-nitrophenol(10mM)	0.05ml	0.1ml	-20℃, 避光
试剂(D): Stopping Solution	10ml	20ml	室温

自备材料:

1. 96孔板
2. 水浴锅或恒温箱
3. 酶标仪

操作步骤 (仅供参考):

1. 配制检测工作液:

①配制显色工作液: 取出1支pNPP, 恢复至室温后溶解于2.5ml ACP Assay buffer, 混匀, 冰上预冷备用。新配制的显色工作液应在6h内用完。

②配制标准品工作液: 取出p-nitrophenol(10mM) 恢复至室温后, 取10 μ l溶解于190 μ l ACP Assay buffer, 使浓度达到0.5mM。

2. 准备样品:

①细胞或组织样品: 取恰当细胞或组织裂解液, 如果有必要需进行适当匀浆, 低速离心取上清, -20℃冻存, 用于酸性磷酸酯酶的检测。

②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本试剂盒的测定, 尿液通常也可以直接用于测定, -20℃冻存, 但为了消除样品本身颜色的干扰, 需设置加了血浆或血清但不加底物的对照。

③高活性样品: 如果样品中含有较高活性的酸性磷酸酶, 可以使用原有的裂解液或PBS等进行稀释, 也可以采用



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

ACP Assay buffer稀释。

3. 加样：按照下表设置96孔板空白对照、标准品、待测样品，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。标准品的用量分别为4、8、16、24、32、40 μ l，待测样品直接加40 μ l。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平行孔。

	空白对照孔	标准品孔	待测样品孔
ACP Assay buffer	40 μ l	(40-x) μ l	(40-y) μ l
显色工作液	40 μ l	40 μ l	40 μ l
待测样品	-	-	y μ l
标准品工作液	-	x μ l	-

4. 轻轻混匀，37 $^{\circ}$ C 孵育25~30min。
5. 每孔加入160 μ l Stopping Solution终止反应。
6. 酶标仪检测410nm处吸光值，如果无法检测410nm，亦可检测400~415nm范围内吸光值，一般应数小时内检测完毕。

计算：

酸性磷酸酶活性单位的定义：pH4.8 37 $^{\circ}$ C条件下，每分钟水解para-nitrophenyl phosphate显色底物产生1微摩尔p-nitrophenol所需的酸性磷酸酶的量定义为一个酶活力单位。根据酶活性定义，计算出样品中的酸性磷酸酯酶活性。血浆中的酸性磷酸酶活性范围2~7.9U/L，血清中酸性磷酸酶的活性范围在2.5~11.7U/L，精液(semen)中含有高浓度的酸性磷酸酯酶，活力可以达到87~436KU/L。

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. 如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定，但应考虑根据比色杯的最小检测体积，尽量采用小体积的比色杯。
4. 所测样本的值高于标准曲线的上限，应用ACP Assay buffer稀释样品后重新测定。
5. 一支显色工作液配制后需当日使用完毕，因此请注意适当多准备一些样品一起检测。
6. p-nitrophenol 溶液对人体有害，反应终止液有腐蚀性，请小心操作。
7. 如果希望进行酶活性的绝对定量，进行酶反应时应精确计时，此时推荐采用孵育30min或更长时间，以减小操作过程中的时间误差。
8. 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60min。
9. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期： 一年有效。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com