

酸性磷酸酶 (ACP) 检测试剂盒 (Folin-酚比色法)

产品货号: BA1702

产品规格: 50T/100T

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 (Folin-酚比色法)(Acid Phosphatase Colorimetric Assay Kit)检测原理是以磷酸苯二钠作为底物, 在酸性条件下, ACP催化底物水解生成苯酚和无机磷, 通过Folin-酚(又称福林酚)测定苯酚的生成量, 于分光光度计或酶标仪680nm处检测吸光度, 以酶促反应时间为横坐标, 以产物生成量为纵坐标绘制进程曲线, 曲线的起始部分在某一段时间内呈直线, 其斜率代表酶促反应的初速度, 随着反应时间延长曲线斜率不断下降, 因此测定ACP酶活力应该在进程曲线的初速度时间范围内进行, 该试剂盒主要用于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	50T	100T	保存条件
试剂(A): Phenol(10mM)	1ml	1ml	4℃, 避光
试剂(B): 样品稀释液	50ml	100ml	4℃
试剂(C): ACP Assay buffer	0.6ml	1.2ml	4℃, 避光
试剂(D): ACP终止液	125ml	250ml	室温
试剂(E): Folin-酚显色液	4.5ml	9ml	4℃, 避光

自备材料:

1. 蒸馏水
2. 离心管或试管
3. 水浴锅或恒温箱
4. 比色杯或96孔板
5. 分光光度计或酶标仪

操作步骤 (仅供参考):

1. 准备样品:

- ①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, 用于ACP的检测。
- ②细胞或组织样品: 取恰当细胞或组织裂解液, 如果有必要可用PBS或NS进行适当匀浆, 一般细胞数量在10以上, 组织应在100mg以上, 3000~4000g离心取上清, -20℃冻存, 用于ACP的检测。
- ③植物样品: 取适量的组织加入NS或PBS, 充分捣碎或研磨, 静置30min, 用纱布或滤纸过滤, 4000g离心20min, 取上清液并测量体积, -20℃冻存, 用于ACP的检测。
- ④高活性样品: 可以使用样品稀释液、PBS或NS稀释含有较高活性的样品后再行检测。

2. 配制ACP Assay工作液: 取ACP Assay buffer温浴溶解, 按ACP assay buffer: 样品稀释液=1: 19的比例混合, 即为ACP Assay工作液。
3. 配制Folin-酚显色工作液: 按Folin-酚显色液: 蒸馏水=1: 2的比例混合即成。
4. 稀释标准品: 按Phenol(10mM): 样品稀释液=1: 24的比例配制标准工作液, 即Phenol(0.4 mM), 按下表梯度



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

稀释。

加入物(μl)	1	2	3	4	5
Phenol(0.4mM)	50	100	150	200	250
样品稀释液	450	400	350	300	250
Phenol浓度(mM)	0.04	0.08	0.12	0.16	0.2

5. ACP加样：按照下表设置空白管、标准管、测定管、对照管(选做)，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。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2平行管，求平均值。

空白管	标准管	测定管	对照管
0.5	-	-	-
-	0.5	-	-
-	-	0.25	0.25
-	-	0.25	-

空白管和标准管直接进行下边操作

ACP终止液	2.5	2.5	2.5	2.5
Folin-酚显色工作液	0.25	0.25	0.25	0.25
待测样品	-	-	-	0.25

摇匀，35℃保温显色10min以上。

6. ACP测定：以空白管(或对照管)调零，比色杯光径1cm，分光光度计测定680nm处标准管和测定管的吸光度(记为A标准和A测定)。

计算：

ACP活性单位的定义：在该实验条件下，每分钟每ml酶液产生1μmol酚(nmol/ml·min) 所需的酶量为一个活性单位。以各标准管的吸光度为纵坐标，相应的酚含量为横坐标绘制酚含量-吸光度值曲线，即为标准曲线。根据测得各待测样品的吸光度，于标准曲线上查出相应的酚含量，乘以稀释倍数后，换算为“nmol/ml·min”的活性单位。

组织或植物粗酶液获得率(ml) = 上清液体积(ml) / 组织或植物质量 × 100 %

注意事项：

- 待测样品中不能含有磷酸酶抑制剂，同时需避免反复冻融。
- 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。
- 如果没有分光光度计，也可以使用普通的酶标仪测定，但应注意96孔板的最大检测体积；虽然酶标仪可以检测，但推荐采用分光光度计。
- 注意单次少测几个样品，以免样品过多导致的时间差异较大。
- 所测样品的值高于标准曲线的上限，应用样品稀释液、PBS或NS稀释样品后重新测定。
- 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30min。

有效期：6个月有效。常温运输，4℃保存。



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

QQ: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com