

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

酸性磷酸酶活性测定试剂盒 Acid Phosphatase (ACP) Activity Assay Kit

产品货号: BC00045

产品规格: 120T

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们:

✉ 邮箱 (销售) order@enkilife.cn

✉ 邮箱 (技术支持) tech@enkilife.cn

☎ 公司电话 027-87002838

🌐 网址 www.enkilife.cn



订阅微信公众号
获取更多技术
信息及前沿动态

保质期: 请见试剂盒外包装标签。

技术支持: 为了更好地给您提供服务, 联系时请告知产品外包装标签上批号。

基本信息

产品中文名称	酸性磷酸酶活性测定试剂盒
产品英文名称	Acid Phosphatase (ACP) Activity Assay Kit
检测方法	Colorimetric
样品类型	血清、血浆、尿液、细胞、组织
检测类型	Enzyme activity
检测仪器及波长	酶标仪（400-415 nm，最佳检测波长 405nm）
检测范围	0.2-50 U/L
灵敏度	0.2U/L

产品简介

酸性磷酸酶(Acid Phosphatase)，也称酸性磷酸酯酶，是一种在溶酶体中含量较高的酸性水解酶，被认为是鉴定溶酶体亚细胞组分的标志物。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。酸性磷酸酶分为两类，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。血浆中的酸性磷酸酶活性范围在 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。

检测原理

Para-nitrophenyl phosphate (pNPP)是一种常用的磷酸酶显色底物，在酸性条件下，可在酸性磷酸酶作用下生成 para-nitrophenol (*p*-nitrophenol)。*p*-nitrophenol 在碱性条件下，呈黄色产物，可以在 400-415nm 检测吸光度。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。据此通过比色分析就可以计算出酸性磷酸酶活性水平。

产品组分

编号	产品名称	包装规格 (120T)	保存方式
试剂一	检测缓冲液	15ml	-20℃
试剂二	显色底物	2 管	-20℃, 避光保存。
试剂三	<i>p</i> -nitrophenol 溶液(10mM)	0.1ml	-20℃, 避光保存。
试剂四	反应终止液	20ml	-20℃
耗材一	96 孔酶标板	1 板	RT
耗材二	96 孔覆膜	2 张	RT

保存条件

未拆封的试剂盒可在 -20℃保存 12 个月。

实验前准备

• 样品处理

1. 细胞或组织裂解液的准备：采用适当细胞或组织裂解液裂解细胞或组织，如果有必要需进行适当匀浆，随后离心取上清，用于酸性磷酸酶的检测。注意：裂解液中不能含有磷酸酶抑制剂。样品可以-80℃冻存，但需避免反复冻融。
2. 血浆、血清和尿液的准备：血浆和血清按照常规方法制备后可以直接用于本试剂盒的测定，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。血浆制备时不能用含 EDTA 和柠檬酸盐的抗凝管。尿液通常也可以直接用于测定。上述样品可以-80℃冻存，但需避免反复冻融。
3. 样品的稀释：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，也可以采用试剂盒中的检测缓冲液进行稀释。如果使用试剂盒中提供的检测缓冲液进行稀释，需注意保留足够的检测缓冲液用于试剂盒的检测过程。

• 试剂盒的准备工作

将所有试剂取出，恢复至室温使用。

1. 显色底物溶液：取一管显色底物，溶解于 2.5ml 的检测缓冲液中(可先用 1ml 检测缓冲液进行溶解，充分溶解和混匀后，转移至 15ml 离心管，再加入 1.5ml 检测缓冲液)，充分溶解和混匀，冰上放置。新鲜配制的显色底物溶液需在 6 小时内使用。
2. 标准品工作液：取 10 μ l *p*-nitrophenol 溶液(10mM)，用检测缓冲液稀释至 0.2ml，最终浓度为 0.5mM。

操作流程

1. 参考下表使用 96 孔板设置空白对照孔、标准品孔和样品孔。标准品的用量分别为 4、8、16、24、32 和 40 微升，样品通常可以直接加 40 微升。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或三复孔。

	空白对照 (Blank)	标准品 (Standard)	样品 (Sample)
检测缓冲液	40 μ l	(80-x) μ l	(40-y) μ l
显色底物	40 μ l	--	40 μ l
样品	--	--	y μ l
标准品工作液	--	x μ l	--

2. 用枪头轻轻吹打混匀，也可借助摇床进行混匀。
3. 37 $^{\circ}$ C 孵育 5-10 分钟。(说明：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 30 分钟)
4. 每孔加入 100 μ l 反应终止液终止反应。此时，标准品或有酸性磷酸酶活性的孔会呈现不同深浅的黄色。
5. 在 405nm 测定吸光度。如果不能测定 405nm，也可以在 400-415nm 范围内检测吸光度。如果不能立即测定，可以在数小时内完成测定，所显现的黄色在数小时内稳定。

结果计算

1. 酸性磷酸酶活性单位的定义：在 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。

2. 根据酶活性定义，计算出样品中的酸性磷酸酯酶活性。

注意事项

1. 如果希望进行酶活性的绝对定量，进行酶反应时必须注意精确计时。此时推荐采用孵育 30 分钟等较长的时间，以减小操作过程中的时间误差。同时如果样品中酶活性较高，则可以预先适当稀释样品。
2. 样品溶液中须避免出现各种酸性磷酸酶抑制剂。
3. 一管显色底物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，以避免试剂盒浪费。
4. *p*-nitrophenol 溶液对人体有害，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。反应终止液有腐蚀性，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或腐蚀其他物品。
5. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。