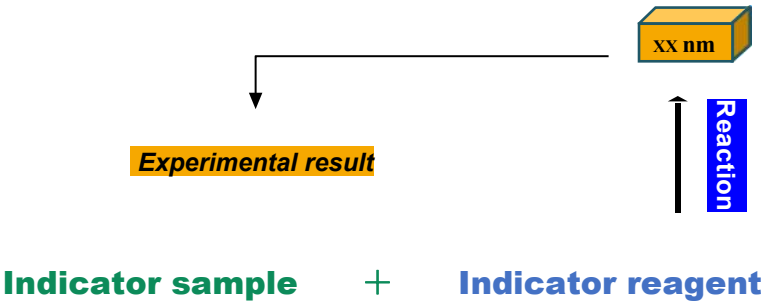
上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.




生化检测原理示意图

货号：ZC-S0385　　规格：100管/48样

# 组织及血液酸性磷酸酶（ACP）活性检测试剂盒说明书
## 微量法

**注意：正式测定前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。**

**产品内容：**

| 种类 | 试剂规格 | 储存条件 | 使用方法及注意事项 |
|---|---|---|---|
| 提取液 | 液体 50mL×1 瓶 | 4℃保存 | – |
| 试剂一 | 液体 5mL×1 瓶 | 4℃避光保存 | – |
| 试剂二 | 液体 5mL×1 瓶 | 4℃避光保存 | – |
| 试剂三 | 液体 15mL×1 瓶 | 4℃避光保存 | 变成蓝绿色不能使用 |
| 标准品 | 液体 1mL×1 支 | 4℃保存 | 1μmol/mL 酚标准液 |

**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。

**试验中所需的仪器和试剂：**

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、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/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长到 510 nm，蒸馏水调零。

2. 试剂一置于 37℃水浴中预热 30 min 以上。

| 试剂名称（μL） | 测定管 | 对照管 | 空白管 | 标准管 |
|---|---|---|---|---|
| 蒸馏水 | – | – | 20 | – |
| 1μmol/mL 标准品 | – | – | – | 20 |
| 上清液 | 20 | – | – | – |
| 试剂一 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| 试剂二 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| 混匀后置于 37℃水浴中保温 15min | | | | |
| 试剂三 | 120 | 120 | 120 | 120 |
| 上清液 | – | 20 | – | – |
| 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 1 μmol 酚。

ACP(U/mg prot)= [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= (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=0.067×(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/mL)= [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

=0.067×(A 测定管-A 对照管)÷(A 标准管-A 空白管)

C 标准品：1μmol/mL； V 样：加入反应体系中上清液体积（mL），0.02mL；Cpr：样品蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间（min），15 min；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。