

上海茁彩生物科技有限公司  
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0658

Size: 50T/24S

## 组织及血液酸性磷酸酶（ACP）检测试剂盒说明书

### 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

#### 一、测定意义：

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。

#### 二、测定原理：

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。

#### 三、需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

#### 四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体×1 瓶	4℃避光保存	
试剂三	液体×1 瓶	4℃避光保存	
试剂四	液体×1 瓶	4℃避光保存	变成蓝绿色不能使用
标准品	液体×1 支	4℃保存	2 μmol/mL 酚标准液

## 五、粗酶液提取：

1. 组织：按照组织质量 (g)：试剂一体积 (mL) 为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一）进行冰浴匀浆，4℃、8000g 离心 10min，取上清液待测。
2. 血液可直接测定，或者适当稀释后测定。

## 六、测定：

1. 分光光度计预热 30min，调节波长到 510nm，蒸馏水调零。
2. 试剂二置于 37℃ 水浴中预热 30min。
3. 空白管：取 EP 管，加入 20 μL 蒸馏水，200 μL 试剂二，200 μL 试剂三，混匀后置于 37℃ 水浴中保温 15min；加入试剂四 600 μL，混匀后于 510nm 测定吸光度，记为 A 空白管。
4. 标准管：取 EP 管，加入 20 μL 标准品，200 μL 试剂二，200 μL 试剂三，混匀后置于 37℃ 水浴中保温 15min；加入试剂四 600 μL，混匀后于 510nm 测定吸光度，记为 A 标准管。
5. 对照管：取 EP 管，加入 200 μL 试剂二，200 μL 试剂三，混匀后置于 37℃ 水浴中保温 15min；加入试剂四 600 μL，混匀；最后加入 20 μL 上清液，混匀后于 510nm 测定吸光度，记为 A 对照管。
6. 测定管：取 EP 管，加入 20 μL 上清液，200 μL 试剂二，200 μL 试剂三，混匀后置于 37℃ 水浴中保温 15min；加入试剂四 600 μL，混匀后于 510nm 测定吸光度，记为 A 测定管。

**注意：**空白管和标准管只需做一次。

## 七、ACP 活性计算：

### 1. 组织中 ACP 活性计算

#### (1) 按照蛋白浓度计算

活性单位定义：37℃ 中每毫克蛋白每分钟催化产生 1 μmol 酚定义为 1 个酶活单位。

$$\text{ACP}(\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [\text{C 标准品} \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V 反总}] \div (\text{Cpr} \times \text{V 样}) \div \text{T} = 6.8 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{Cpr}$$

## (2) 按照样本质量计算

活性单位定义：37°C中每克组织每分钟催化产生1 μmol 酚定义为1个酶活单位。

$$\text{ACP} (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}) = [\text{C 标准品} \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V 反总}] \div (\text{W} \times \text{V 样} \div \text{V 样总}) \div \text{T} = 6.8 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W}$$

C 标准品：2 μmol/mL；V 反总：反应体系总体积 (mL)，1020 μL=1.02 mL；Cpr：粗酶液蛋白质浓度 (mg/mL)，需要另外测定，建议使用本公司生产的 BCA 蛋白质含量测定试剂盒；V 样：加入反应体系中上清液体积 (mL)，0.020mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；W:样本质量，g；T：反应时间 (min)，15 min。

## 2. 血液中 ACP 活性计算

活性单位定义：37°C中每毫升血液每分钟催化产生1 μmol 酚定义为1个酶活单位。

$$\text{ACP 活力} (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}) = [\text{C 标准品} \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V 反总}] \div \text{V 样} \times \text{V 样总} \div \text{T} = 6.8 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})$$

C 标准品：2 μmol/mL；V 反总：反应体系总体积 (mL)，1020 μL=1.02 mL；V 样：加入反应体系中上清液体积 (mL)，0.020mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间 (min)，15 min。

## 八、注意事项：

- 1、试剂二、试剂三和试剂四均需避光保存。
- 2、试剂四变蓝绿色后不能再使用。
- 3、加入试剂四后必须立即混匀，否则显色不完全。
- 4、ACP 不稳定，尤其在 37 °C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 °C可保存 1 周。