

酸性磷酸酶（ACP）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1095

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：动物组织、细胞、血清（浆）

产品简介

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。本试剂盒提供了一种简单、快速的 ACP 检测方法，其检测原理是在酸性环境中，ACP 催化对硝基苯磷酸二钠水解生成 4-硝基苯酚，在 405nm 有特征光吸收；通过测定 405nm 吸光度增加速率，来计算 ACP 活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	60mL	120mL	4℃保存
试剂一	3mL	6mL	4℃避光保存
试剂二	3mL	6mL	4℃
标准品（5 μmol/mL 对硝基苯酚）	1mL	1mL	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 405nm 处的吸光度）

恒温箱、制冰机、低温离心机

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

标准品：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

样本制备

1. 组织样本：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，10,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

2. 细胞：收集 500 万细胞到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 10,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

3. 血清（浆）液体样本：血清（浆）可以直接用于测定。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 405nm，可见光分光光度计去离子水调零。

产品说明书

2. 按照下表在 96 孔板或微量玻璃比色皿中进行加样及反应:

	空白孔 (μL)	标准孔 (μL)	对照孔 (μL)	测定孔 (μL)
提取液	100	90	190	90
标准品	0	10	0	0
样本	0	0	10	10
试剂一	100	100	0	100

混匀后置于 37℃ 避光孵育 10min

试剂二	40	40	40	40
-----	----	----	----	----

混匀, 于 405nm 测定吸光度, 其中标准和空白只需测定一次, 每个样本均需设置对照, 各孔的吸光度分别记为 $A_{\text{空白}}$, $A_{\text{标准}}$, $A_{\text{对照}}$, $A_{\text{测定}}$, 计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$, $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 2.0, 样本可用提取液进一步稀释, 计算结果乘以稀释倍数, 或减少提取用样本量。

结果计算

1. 按蛋白浓度计算

活性单位定义: 37℃ 中每毫克蛋白在反应体系中每分钟催化产生 1 μmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\text{ACP (U/mg prot)} = (C_{\text{标准品}} \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \times V_{\text{反应}}) \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 10 \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本鲜重计算

活性单位定义: 37℃ 中每克组织在反应体系中每分钟催化产生 1 μmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\text{ACP (U/g 鲜重)} = (C_{\text{标准品}} \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \times V_{\text{反应}}) \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 10 \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \div W$$

3. 按液体体积计算

活性单位定义: 37℃ 中每毫升血液或尿液在反应体系中每分钟催化产生 1 μmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\text{ACP (U/mL)} = (C_{\text{标准品}} \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \times V_{\text{反应}}) \div V_{\text{样}} \div T = 10 \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}$$

4. 按细胞数目计算

活性单位的定义: 37℃ 中每 1 万个细胞在反应体系中每分钟催化产生 1 μmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\text{ACP (U/10}^4 \text{ cells)} = (C_{\text{标准品}} \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \times V_{\text{反应}}) \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div T = 0.02 \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}$$

$C_{\text{标准品}}$: 标准品的浓度, 5 μmol/mL; $V_{\text{反应}}$: 反应体系总体积, 0.2mL; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中上清液体积, 0.01mL; T : 反应时间, 10min; $V_{\text{提取}}$: 加入提取液体积, 1mL; W : 样本鲜重, g; C_{pr} : 上清液蛋白质浓度, mg/mL; 500: 细胞数量, 500 万。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

相关产品:

PMK1096 碱性磷酸酶 (AKP/ALP) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1094 乙酰胆碱酯酶 (AChE) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1000 NAD 激酶 (NADK) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1120 己糖激酶 (HK) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1121 丙酮酸激酶 (PK) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

