

酸性磷酸酶(ACP)活性检测试剂盒说明书

Acid Phosphatase Assay Kit

分光光度法

货号：AK354

规格：50T/24S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK354-A	30ml ×1 瓶	4℃保存；
AK354-B	10ml ×1 瓶	4℃避光保存；
AK354-C	10ml ×1 瓶	4℃避光保存；
AK354-D	30ml ×1 支	4℃避光保存，变成蓝绿色不能使用。
AK354-标准品	液体×1 支	标准品：2μmol/mL 酚标准液，4℃保存。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：酸性磷酸酶 (Alkaline Phosphatase, 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。

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。

自备用品：

紫外分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、水浴锅、可调式移液枪、研钵、冰和双蒸水。

粗酶液提取：

- 组织：按照组织质量 (g): AK354-A 体积(mL)为 1: 5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL AK354-A）进行冰浴匀浆。10000rpm, 4℃离心 10min, 取上清，置冰上待测。
- 血液可直接测定，或者适当稀释后测定。

测定步骤：

- 分光光度计预热30 min，调节波长到510 nm，蒸馏水调零。
- AK354-B 置于37℃ 水浴中预热30 min。
- 在 EP 管中按列表中顺序加入上述试剂，

试剂名称	空白管 (ul)	标准管(ul)	对照管 (ul)	测定管 (ul)
上清液				20
标准品		20		
蒸馏水	20			
AK354-B	200	200	200	200
AK354-C	200	200	200	200
混匀后置于37℃ 水浴中保温15min;				
AK354-D	600	600	600	600
必须立即混匀，否则显色不完全。				
上清液			20	
混匀后于510 nm 测定吸光度				
	记为：A 空白管	记为：A 标准管	记为：A 对照管	记为：A 测定管

注：空白管和标准管只需测定 1-2 次。

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。

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

(2) 按照样本质量计算

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

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

注： C 标准品：2μmol/mL; V 反总：反应体系总体积 (mL), 1020μL=1.02 mL; Cpr: 粗酶液蛋白质浓度 (mg/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; 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℃中每毫升血液每分钟催化产生 1μmol 酚定义为 1 个酶活单位。

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

注： C 标准品：2 μ mol/mL; V 反总：反应体系总体积(mL), 1020 μ L=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; Cpr: 样本蛋白浓度 (mg/mL), 需要另外测定; W: 样本质量, g; T: 反应时间 (min), 15 min.

注意事项：

1. AK354-B, AK354-C, AK354-D 需 4℃避光保存；
2. AK354-D 变成蓝绿色不能使用。
3. 加入 AK354-D 后必须立即混匀，否则显色不完全。
4. 蛋白定量测定，建议使用本公司生产的 BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))；
5. 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。