

酸性蛋白酶 (ACP) 检测试剂盒 (微量法)
(本试剂盒仅供科研使用)**产品包装**

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0399	酸性蛋白酶 (ACP) 检测试剂盒	100 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 50mL ×1 瓶	4°C
试剂一	液体 5mL ×1 瓶 (使用前置于 37°C 水浴中预热 30 min 以上)	4°C, 避光
试剂二	液体 5mL ×1 瓶	4°C, 避光
试剂三	液体 15mL ×1 瓶 (变成蓝绿色不能使用)	4°C, 避光
标准品	液体 1mL ×1 支, 1μmol/mL 酚标准液。	4°C

一、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。

二、自备材料

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。

三、样本准备:

- 称取约 0.1g 组织, 加提取液 1mL 充分研磨, 4°C、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。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 510nm, 蒸馏水调零。
- 操作表

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°C 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。				

五、ACP 酶活的计算

1、按照蛋白浓度计算:

活性单位定义: 37°C 中每毫克蛋白每分钟催化产生 1 μ mol 酚。

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

2、按照样本鲜重计算:

活性单位定义: 37°C 中每克组织每分钟催化产生 1 μ mol 酚。

$$\text{ACP 活力(U/g)} = [\text{C 标准品} \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V 样}] \div (\text{W} \div \text{V 提取} \times \text{V 样}) \div \text{T} = 0.067 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W}$$

3、血液中 ACP 酶活的计算:

活性单位定义: 37°C 中每毫升血液每分钟催化产生 1 μ mol 酚。

$$\text{ACP 活力(U/mL)} = [\text{C 标准品} \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V 样}] \div \text{V 样} \div \text{T} = 0.067 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})$$

C 标准品: 1 μ mol/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。

六、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°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。