

组织及血液酸性磷酸酶（ACP）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC2130

规格：50T/24S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 9 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 9 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 18 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 18 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

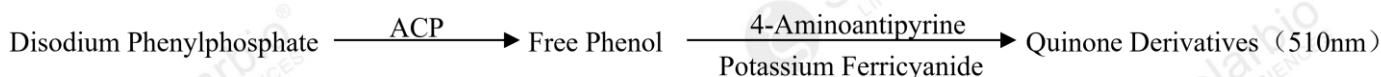
溶液的配制：

标准品：10 μmol/mL 酚标准品，临用前蒸馏水稀释至 0.2 μmol/mL 备用（可以吸取 20 μL 10 μmol/mL 酚标准品和 980 μL 蒸馏水混合备用），稀释后的标准品 2-8℃保存一周。

产品说明：

酸性磷酸酶（acid phosphatase, ACP, EC 3.1.3.2）广泛存在于体内各组织、细胞和体液中。ACP 在酸性条件下催化磷酸单酯水解成无机磷酸，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-氨基安替比林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。



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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

组织样本称取约 0.1g 组织，加提取液 1mL 充分研磨，4℃，10000rpm 离心 10min，取上清液待测。

血清（血浆）：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、分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 510nm，蒸馏水调零。

2、试剂一使用前平衡至常温，试剂二 37℃预热 10min。

3、操作表：（在 EP 管中依次加入下列试剂）





试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管	标准管
样本	300	-	-	-
蒸馏水	-	-	300	-
标准品	-	-	-	300
试剂一	150	150	150	150
试剂二	150	150	150	150
混匀后置入 37℃ 中保温 15min			-	-
试剂三	300	300	300	300
试剂四	300	300	300	300
样本	-	300	-	-

充分混匀后于 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。 ΔA 测定=A 测定管-A 对照管, ΔA 标准=A 标准管-A 空白管。空白管和标准管只需做 1-2 次。

注: 若样本过多, 也可根据样本量将试剂一和试剂二按加样表比例配制成工作液进行加样, 工作液现用现配, 常温放置, 不可保存过久。

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 1μmol 酚为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{ACP 酶活 (U/mg prot)} &= C \text{ 标准品} \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times V \text{ 样} \div (C_{pr} \times V \text{ 样}) \div T \times F \\ &= 0.0133 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div C_{pr} \times F \end{aligned}$$

2、按样本质量计算

活性单位定义: 37℃ 中每克组织每分钟催化产生 1μmol 酚为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{ACP 酶活 (U/g 质量)} &= C \text{ 标准品} \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times V \text{ 样} \div (W \div V \text{ 提取} \times V \text{ 样}) \div T \times F \\ &= 0.0133 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div W \times F \end{aligned}$$

3、按血液体积计算

活性单位定义: 37℃ 中每毫升血液每分钟催化产生 1μmol 酚为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{ACP 酶活 (U/mL)} &= C \text{ 标准品} \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times V \text{ 样} \div V \text{ 样} \div T \times F \\ &= 0.0133 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times F \end{aligned}$$

C 标准品: 标准品浓度, 0.2μmol/mL; V 样: 加入反应体系中样本体积, 0.3mL; C_{pr}: 样本蛋白浓度, mg/mL; T: 反应时间, 15min; V 提取: 加入提取液体积, 1mL; W: 样本质量, g; F: 稀释倍数。

注意事项:

- 1、酸性磷酸酶样本一般需当天准备, 不可以在常温或者 pH 大于 7 的条件下放置时间过长, 容易失活; 血清样本中, 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, -20℃ (1 个月) 或者 -80℃ (3 个月) 保存为最佳。
- 2、若 ΔA 测定大于 1 或者 A 测定大于 1.5 时, 建议用蒸馏水稀释样本后进行测定; 若 ΔA 测定小于 0.01, 建议加大样本量重提或者提高操作表加样量 (同时减少试剂二体积)。

实验实例:



1、取0.102g兔子肾脏样本，加入1mL提取液进行冰浴匀浆，离心后取上清，用蒸馏水将样本稀释2倍，按照测定步骤操作，用玻璃比色皿测定并计算： $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.938 - 0.051 = 0.887$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.485 - 0.02 = 0.465$ ，按样本质量计算得：

ACP酶活 (U/g 质量) = $0.0133 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F = 0.497 \text{ U/g 质量}$ 。

2、取胎牛血清按照测定步骤操作，用玻璃比色皿测定并计算： $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.525 - 0.149 = 0.376$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.485 - 0.02 = 0.465$ ，按液体体积计算得：

ACP酶活 (U/mL) = $0.0133 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} = 0.011 \text{ U/mL}$

相关发表文献：

[1] Shi B, Hou K, Cheng C, Bai Y, Liu C, Du Z, Wang J, Wang J, Li B, Zhu L. Effects of the polyhalogenated carbazoles 3-bromocarbazole and 1,3,6,8-tetrabromocarbazole on soil microbial communities. *Environ Res.* 2023 Dec 15;239(Pt 2):117379. doi: 10.1016/j.envres.2023.117379. Epub 2023 Oct 11. PMID: 37832772.

[2] Fazal A, Yang M, Wang X, Lu Y, Yao W, Luo F, Han M, Song Y, Cai J, Yin T, Niu K, Sun S, Qi J, Lu G, Wen Z, Yang Y. Discrepancies in rhizobacterial assembly caused by glyphosate application and herbicide-tolerant soybean Co-expressing GAT and EPSPS. *J Hazard Mater.* 2023 May 15;450:131053. doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.131053. Epub 2023 Feb 22. PMID: 36842198.

[3] Yang X, Liao X, Yu L, Rao S, Chen Q, Zhu Z, Cong X, Zhang W, Ye J, Cheng S, Xu F. Combined metabolome and transcriptome analysis reveal the mechanism of selenate influence on the growth and quality of cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.). *Food Res Int.* 2022 Jun;156:111135. doi: 10.1016/j.foodres.2022.111135. Epub 2022 Mar 15. PMID: 35651008.

[4] Wang L, Feng J, Wang G, Guan T, Zhu C, Li J, Wang H. Effects of cadmium on antioxidant and non-specific immunity of *Macrobrachium nipponense*. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2021 Aug 19;224:112651. doi: 10.1016/j.ecoenv.2021.112651. Epub ahead of print. PMID: 34419645.

[5] Tan C, Zhao W, Wen W, Chen X, Ma Z, Yu G. Unraveling the effects of sulfamethoxazole on the composition of gut microbiota and immune responses in *Stichopus variegatus*. *Front Microbiol.* 2022 Nov 7;13:1032873. doi: 10.3389/fmicb.2022.1032873. PMID: 36419422; PMCID: PMC9676455.

相关系列产品：

BC6090/ BC6095 细胞酸性磷酸酶 (ACP) 活性检测试剂盒

BC2020/ BC2025 乙酰胆碱酯酶 (AChE) 活性检测试剂盒

BC2140/ BC2145 组织及血液碱性磷酸酶 (AKP/ALP) 活性检测试剂盒

BC6080/ BC6085 细胞碱性磷酸酶 (AKP/ALP) 活性检测试剂盒

BC0840/ BC0845 羧酸酯酶 (CarE) 活性检测试剂盒

