



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

## 酸性磷酸酶(ACP)活性检测试剂盒(微量法)

货号: R41995

规格: 100T/48S

有效期: 6个月

产品组成及保存条件:

| 编号   | 规格      | 储存条件                        |
|------|---------|-----------------------------|
| 试剂-A | 60ml×1瓶 | 2-8℃保存;                     |
| 试剂-B | 5ml×1瓶  | 2-8℃避光保存;                   |
| 试剂-C | 5ml×1瓶  | 2-8℃避光保存;                   |
| 试剂-D | 15ml×1支 | 2-8℃避光保存, 变成蓝绿色不能使用。        |
| 标准品  | 1ml×1支  | 标准品: 2μmol/mL 酚标准液, 2-8℃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:

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:

1. 组织: 按照组织质量 (g): 试剂-A 体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 试剂-A) 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。

### 测定步骤:

1. 分光光度计/酶标仪预热30 min, 调节波长到510 nm, 蒸馏水调零。
2. 试剂-B 置于37°C水浴中预热30 min。
3. 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                  |          |          |          | 4        |
| 标准品                  |          | 4        |          |          |
| 蒸馏水                  | 4        |          |          |          |
| 试剂-B                 | 40       | 40       | 40       | 40       |
| 试剂-C                 | 40       | 40       | 40       | 40       |
| 混匀后置于37°C水浴中保温15min; |          |          |          |          |
| 试剂-D                 | 120      | 120      | 120      | 120      |
| 必须立即混匀, 否则显色不完全。     |          |          |          |          |
| 上清液                  |          |          | 4        |          |
| 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 |

注意: 空白管、对照管、和标准管只需测定一次。

### ACP 活性计算:

#### 1. 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 $\mu$ mol 酚定义为1 个酶活单位。

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

$$\text{反总}] \div \text{V 样} \times \text{V 样总} \div \text{T} = 6.8 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})$$

#### 2. 组织中ACP 活性计算

##### (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 $\mu$ mol 酚定义为1 个酶活单位。



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

(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1μmol 酚定义为1 个酶活单位。

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

注: C 标准品: 2μmol/mL; V 反总: 反应体系总体积(mL), 204μL=0.204 mL;  
V 样: 加入反应体系中上清液体积 (mL), 0.004mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间 (min), 15 min; W: 样本质量, g; Cpr: 样本蛋白浓度。

### 注意事项:

1. 试剂-B, 试剂-C, 试剂-D 需 4°C避光保存;
2. 试剂-D 变成蓝绿色不能使用。
3. 加入 试剂-D 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。