

酸性磷酸酶（ACP）活性测定试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

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。

测定原理：

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。

组成：

产品名称	ES005-50T/24S	Storage
试剂一：液体	60ml	4°C
试剂二：液体	25ml	4°C
试剂三：液体	25ml	4°C
说明书	一份	

自备仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、分析天平、可调式移液器、1ml 玻璃比色皿、冰、可调式移液器和蒸馏水。

粗酶液提取：

1. 组织：按照组织质量 (g)：试剂一体积(ml)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1ml 试剂一）进行冰浴匀浆，4°C、10000g 离心 10min，取上清液待测。
2. 细菌或细胞：按照细菌或细胞数量 (10^4 个)：试剂一体积 (ml) 为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1ml 试剂一），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；然后 10000g，4°C，离心 10min，取上清置于冰上待测。
3. 血液可直接测定，或者适当稀释后测定。

测定：

1. 分光光度计预热 30 min，调节波长到 405 nm。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线：0518-81263339

官网：<http://www.bio149.com>

2. 在 EP 管中加入下列试剂

试剂名称 (μl)	测定管	对照管
样本	10	10
试剂一	90	990
试剂二	900	
30°C避光保温 30 min		
试剂三	400	400

混匀，吸取 1 ml 加入玻璃比色皿中，405 nm 下测定各管吸光值。 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。

注意：每个测定管需做一个对照管。

ACP 活性计算：

标准曲线 $y = 14.6672x + 0.0179$; $R^2 = 0.9996$; x 为标准品浓度 ($\mu\text{mol/ml}$)，y 为吸光值 ΔA 。

1. 血液中 ACP 活性计算

活性单位定义：30°C 中每毫升血液每分钟催化产生 1 μmol 4-硝基苯酚定义为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{ACP 活力}(\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}) &= (\Delta A - 0.0179) \div 14.6672 \times V_{\text{反总}} \div T \div V_{\text{样}} \\ &= 0.2273 \times (\Delta A - 0.0179) \end{aligned}$$

2. 组织、细菌或细胞中 ACP 活性计算

(1) 按照蛋白浓度计算

活性单位定义：30°C 中每毫克蛋白每分钟催化产生 1 μmol 4-硝基苯酚定义为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{ACP 活力}(\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) &= (\Delta A - 0.0179) \div 14.6672 \times V_{\text{反总}} \div T \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \\ &= 0.2273 \times (\Delta A - 0.0179) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

(2) 按照样本质量计算

活性单位定义：30°C 中每克组织每分钟催化产生 1 μmol 4-硝基苯酚定义为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{ACP 活力}(\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) &= (\Delta A - 0.0179) \div 14.6672 \times V_{\text{反总}} \div T \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 0.2273 \times (\Delta A - 0.0179) \div W \end{aligned}$$

(3) 按照细菌或细胞数量计算

活性单位定义：30°C 中每 10^4 个细菌或细胞每分钟催化产生 1 μmol 4-硝基苯酚定义为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{ACP 活力}(\mu\text{mol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) &= (\Delta A - 0.0179) \div 14.6672 \times V_{\text{反总}} \div T \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 0.2273 \times (\Delta A - 0.0179) \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

V 反总：反应体系总体积 (ml)，1 ml; W：样品质量，g; V 样：加入反应体系中样本体积 (ml)，0.01 ml; V 样总：提取液体积，1 ml; T：反应时间 (min)，30 min; 500：细胞或细菌总数，500 万。

注意事项：

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。

