

## Acid Phosphatase Activity Assay Kit

### 酸性磷酸酶(ACP)活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1842B	酸性磷酸酶(ACP)活性检测试剂盒 微板法	96T

#### 产品简介:

磷酸酶是植一种重要的水解酶。酸性磷酸酶（ACP，EC 3.1.3.2）在酸性条件下磷酸酯去磷酸化。本试剂盒提供一种高灵敏度，简单，直接的检测方法，使用磷酸对硝基苯酯（pNPP）作为底物，生成黄色的产物 PNP，该产物在 405nm 处有最大吸收峰。通过检测 PNP 在 405nm 下的增加速率，即可得到酸性磷酸酶（ACP）活性的大小。

#### 产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	110mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	20mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉末×1 支	4°C保存	每瓶临用前加 1mL 试剂一溶解，现配现用，一周内用完。
试剂三	3mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉末×1 支	4°C保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

#### 使用方法:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

##### 一、样本准备

###### 1. 组织样本:

- (a) 称取约 0.1g 组织（水分充足的样本可取 0.5g），加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆；
- (b) 12000rpm，4°C 离心 15min，取上清待测。

【注】：1.若增加样本量，也可以按照组织质量（g）：试剂一体积(mL)为 1：5~10 的比例提取。

2.样本制备，当天准备当天测定。且样本中应避免酒石酸盐，氟化物，EDTA，草酸盐和柠檬酸盐等物质，因其对酸性磷酸酶的活性有抑制作用。

###### 2. 细胞/细菌样本:

- (a) 先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；
- (b) 取  $5 \times 10^6$  个细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；
- (c) 12000rpm 4°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，按照每  $0.5 \sim 1 \times 10^7$  个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

###### 3. 液体样本:

可直接测定，或者适当稀释后测定。若浑浊，离心后取上清检测。

##### 二、样品测定

1. 酶标仪预热 30 min，设置温度 37°C，调节波长为 405nm。
2. 所有试剂于 37°C 水浴中预热 30 min。
3. 在 96 孔板中依次加入下列试剂：

试剂名称（ $\mu$ L）	测定管	空白管 （只做一次）

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

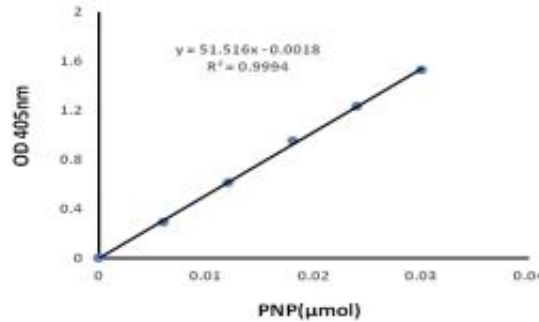


样本	10	-
试剂一	140	150
试剂二	20	20
混匀，避光反应，37°C水浴或恒温培养箱孵育 20min		
试剂三	30	30
混匀，在 37°C下静置 5min，立即于 405nm 下读取吸光值 A， $\Delta A = A \text{ 测定} - A \text{ 空白}$ 。		

- 【注】** 1. 最后一步检测时，若有结晶析出，需要 37°C 复溶再读取吸光值。  
 2. 若  $\Delta A$  的值非常低在零附近，可增加样本量 V1（如增至 20 $\mu$ L，则试剂一相应减少）或延长反应时间 T（如增至 30min 或更长），则重新调整的 V1 和 T 须代入公式重新计算。  
 3. 若  $\Delta A$  的值超过 1，则需要稀释样本，稀释倍数 D 代入计算公式；  
 4. 若样本上清液颜色较深且偏黄色可增加样本自身对照管消除背景色造成的影响，对照管为：10 $\mu$ L 样本+140 $\mu$ L 试剂一+20 $\mu$ L 蒸馏水，37°C 水浴或恒温培养箱孵育 20min 后，再加 30 $\mu$ L 试剂三，37°C 下静置 5min 后于 405nm 读值， $\Delta A = A \text{ 测定} - A \text{ 对照}$ 。提醒：若设定对照管，则可检测的样本数量会相应减少，由 96 样减少为 48 样。

### 三、结果计算

1. 标准曲线： $y = 51.516x - 0.0018$ ，x 是 PNP 摩尔质量： $\mu$ mol；y 是  $\Delta A$ 。



2. 按照样本质量计算：

酶活定义：在 37°C 下，每克组织每分钟水解 1 $\mu$ mol PNPP 产生 PNP 定义为 1 个酶活单位。

$$ACP (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0018) \div 51.516] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D = 0.1 \times (\Delta A + 0.0018) \div W \times D$$

3. 按照样本蛋白浓度计算：

酶活定义：在 37°C 下，每毫克蛋白每分钟水解 1 $\mu$ mol PNPP 产生 PNP 定义为 1 个酶活单位。

$$ACP (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A + 0.0018) \div 51.516] \div (Cpr \times V1) \div T \times D = 0.1 \times (\Delta A + 0.0018) \div Cpr \times D$$

4. 按细菌/细胞数量计算：

酶活定义：在 37°C 下，每 10<sup>4</sup> 个细胞每分钟水解 1nmol PNPP 产生 PNP 定义为 1 个酶活单位。

$$ACP (\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0018) \div 51.516] \times 10^3 \div (500 \times V1 \div V) \div T \times D \\ = 0.194 \times (\Delta A + 0.0018) \times D$$

5. 按液体体积计算：

酶活定义：在 37°C 下，每毫升液体每分钟水解 1 $\mu$ mol PNPP 产生 PNP 定义为 1 个酶活单位。

$$ACP \text{ 活力} (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.0018) \div 51.516] \div V1 \div T = 0.1 \times (\Delta A + 0.0018)$$

V---提取液体积，1 mL

T---反应时间，20 min

500---细菌或细胞总数，万

Cpr---上清液蛋白质浓度，mg/mL

V1---上清液体积 (mL)，0.01mL

D---稀释倍数，未稀释即为 1

Mr---乙醛分子量，44.05

W---样本质量，g

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
 注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液（10 $\mu$ mol/mL）：向标准品离心管里面加入 1.4mL 蒸馏水超声溶解，若有结晶析出，需 37 $^{\circ}$ C 水浴至完全溶解。
2. 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0，0.6，1.2，1.8，2.4，3  $\mu$ mol/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。

**注意事项：**

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：**

4 $^{\circ}$ C 保存六个月。

