

酸性蛋白酶 (ACP) 检测试剂盒 (分光光度计法)
(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
YFX0398	酸性蛋白酶 (ACP) 检测试剂盒	50 管/24 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体×1 瓶	4℃
试剂二	液体 ×1 瓶 (使用前置于 37℃水浴中预热 30 min 以上)	4℃, 避光
试剂三	液体 ×1 瓶	4℃, 避光
试剂三	液体 ×1 瓶 (变成蓝绿色不能使用)	4℃, 避光
标准品	液体 ×1 支, 2μmol/mL 酚标准液。	4℃

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、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

三、样本准备:

- 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℃、8000g 离心 10min, 取上清液待测。
- 2、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。

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 510nm, 蒸馏水调零。
- 2、空白管: 取 EP 管, 加入 20μL 蒸馏水, 200μL 试剂二, 200μL 试剂三, 混匀后置于 37℃ 水浴中保温 15min; 加入试剂四 600μL, 混匀后于 510nm 测定吸光度, 记为 A 空白管。
- 3、标准管: 标准管: 取 EP 管, 加入 20μL 标准品, 200μL 试剂二, 200μL 试剂三, 混匀后置于 37℃ 水浴中保温 15min; 加入试剂四 600μL, 混匀后于 510nm 测定吸光度, 记为 A 标准管。
- 4、对照管: 取 EP 管, 加入 200μL 试剂二, 200μL 试剂三, 混匀后置于 37℃ 水浴中保温 15min; 加入试剂四 600μL, 混匀; 最后加入 20μL 上清液, 混匀后于 510nm 测定吸光度, 记为 A 对照管。

5、测定管：取 EP 管，加入 20 μ L 上清液，200 μ L 试剂二，200 μ L 试剂三，混匀后置于 37 $^{\circ}$ C 水浴中保温 15min；加入试剂四 600 μ L，混匀后于 510nm 测定吸光度，记为 A 测定管。

五、ACP 酶活的计算

1、按照蛋白浓度计算：

活性单位定义：37 $^{\circ}$ C 中每毫克蛋白每分钟催化产生 1 μ mol 酚定义为 1 个酶活单位。

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

2、按照样本鲜重计算：

活性单位定义：37 $^{\circ}$ C 中每克组织每分钟催化产生 1 μ mol 酚定义为 1 个酶活单位。

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

C 标准品：2 μ mol/mL；V 反总：反应体系总体积（mL），1020 μ L=1.02 mL；Cpr：粗酶液蛋白质浓度（mg/mL），需要另外测定，建议使用本公司生产的 BCA 蛋白质含量测定试剂盒；V 样：加入反应体系中上清液体积（mL），0.020mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；W:样本质量，g；T：反应时间（min），15 min。

3、血液中 ACP 酶活的计算：

活性单位定义：37 $^{\circ}$ C 中每毫升血液每分钟催化产生 1 μ mol 酚定义为 1 个酶活单位。

$ACP \text{ 活力}(\mu\text{ mol/min/mL}) = [C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times V \text{ 反总}] \div V \text{ 样} \times V \text{ 样总} \div T = 6.8 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})$ 。

C 标准品：2 μ mol/mL；V 反总：反应体系总体积（mL），1020 μ L=1.02 mL；V 样：加入反应体系中上清液体积（mL），0.020mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间（min），15 min。

六、注意事项

- 1、空白管和标准管只需做一次。
- 2、试剂二、试剂三和试剂四均需避光保存。
- 3、试剂四变蓝绿色后不能再使用。
- 4、加入试剂四后必须立即混匀，否则显色不完全。
- 5、ACP 不稳定，尤其在 37 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C 可保存 1 周。