

组织及血液酸性磷酸酶（ACP）活性检测试剂盒说明书

| 产品货号 | 产品名称 | 包装规格 | 测定方法 |
|-----------|--------------------|------|------|
| AMHD5-M48 | 组织及血液酸性磷酸酶（ACP）试剂盒 | 48T | 微量法 |

产品说明：

ACP（Acid Phosphatase）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。

试剂组成：

| 试剂名称 | 规格 | 保存条件 |
|------|--------------|---------|
| 提取液 | 液体 60 mL×1 瓶 | 2-8℃ 保存 |
| 试剂一 | 液体 5 mL×1 瓶 | 2-8℃ 保存 |
| 试剂二 | 液体 5 mL×1 瓶 | 2-8℃ 保存 |
| 试剂三 | 液体 15 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：

- 1、标准品：10 μ mol/mL 酚标准液，临用前蒸馏水稀释至 0.625 μ mol/mL 备用（可以吸取 20 μ L 10 μ mol/mL 酚 标准液和 300 μ L 蒸馏水混合备用），稀释后的标准液 2-8℃ 保存一周。

操作步骤：

一、样本处理

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。血浆（血清）：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/酶标仪预热 30min 以上，调节波长到 510nm，分光光度计蒸馏水调零。
- 2、试剂一置于 37℃ 水浴中预热 30min 以上。
- 3、操作表：

| 试剂名称 (μL) | 测定管 | 对照管 | 空白管 | 标准管 |
|--|-----|-----|-----|-----|
| 蒸馏水 | - | - | 20 | - |
| 标准品 | - | - | - | 20 |
| 上清液 | 20 | - | - | - |
| 试剂一 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| 试剂二 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| 混匀后置于37℃中保温 15min | | | | |
| 试剂三 | 120 | 120 | 120 | 120 |
| 上清液 | - | 20 | - | - |
| 混匀后于510nm 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。空白管和标准管只需做 1-2 次 | | | | |

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 1 μmol 酚为一个酶活力单位。

$$\text{ACP 酶活 (U/mg prot)} = \frac{[C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times V \text{ 样}] \div (C_{\text{pr}} \times V \text{ 样}) \div T}{0.0417} = \frac{0.0417 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div C_{\text{pr}}}{0.0417}$$

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 1 μmol 酚为一个酶活力单位。

$$\text{ACP 酶活 (U/g 质量)} = \frac{[C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times V \text{ 样}] \div (W \div V \text{ 提取} \times V \text{ 样}) \div T}{0.0417} = \frac{0.0417 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W}{0.0417}$$

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 1 μmol 酚为一个酶活力单位。

$$\text{ACP 酶活 (U/mL)} = \frac{[C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times V \text{ 样}] \div V \text{ 样} \div T}{0.0417} = \frac{0.0417 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})}{0.0417}$$

C 标准品：标准品浓度，0.625 μmol/mL；V 样：加入反应体系中上清液体积，0.02 mL；
C_{pr}：样本蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间，15 min；V 提取：加入提取液体积，1 mL；
W：样本质量，g。

注意事项：

- 1、试剂一、试剂二和试剂三均需避光保存。
- 2、试剂三变蓝绿色后不能再使用。
- 3、加入试剂三后必须立即混匀，否则显色不完全。
- 4、ACP 不稳定，尤其在 37℃ 和 pH 大于 7 的条件下活力丧失快，因此酸性磷酸酶样本一般需当天准备；血清样本中，每毫升血清中加入 10 mg 柠檬酸氢二钠或者 5 mg 硫酸氢钠，使 pH 降至 6.5 以下，或 5 mL 血清加入 30% 醋酸溶液 2~3 滴，置于 4℃ 可保存 1 周。