（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K094-S

产品规格：50 assays(48 samples)/ 100 assays(96 samples)

检测仪器：紫外-可见光分光光度计（520 nm）

Elabscience®酸性磷酸酶（ACP）比色法测试盒

Acid Phosphatase (ACP) Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

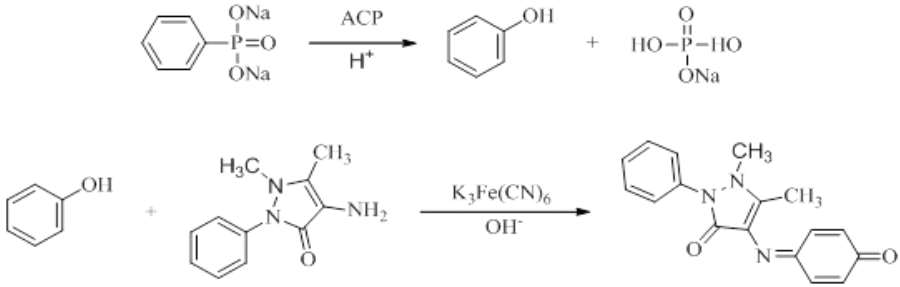
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测动物血清(浆)、体液、组织及细胞中酸性磷酸酶的活力。

检测原理

酸性磷酸酶在酸性条件下分解磷酸苯二钠产生游离酚和磷酸，酚在碱性溶液中与4-氨基安替比林作用，经铁氰化钾氧化成红色醌的衍生物，根据红色深浅测出酶活力的高低。



本试剂盒测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用BCA法（货号：E-BC-K318-M）。

提供试剂和物品

编号	名称	规格1(Size 1)（50 assays）	规格2(Size 2)（100 assays）	保存方式(Storage)
试剂一(Reagent 1)	缓冲液(Buffer Solution)	30 mL×1瓶	60 mL×1瓶	2-8℃保存3个月
试剂二(Reagent 2)	基质液(Substrate Solution)	30 mL×1瓶	60 mL×1瓶	2-8℃避光保存3个月
试剂三(Reagent 3)	碱液(Alkali Reagent)	60 mL×1瓶	60 mL×2瓶	2-8℃避光保存3个月
试剂四(Reagent 4)	显色剂(Chromogenic Agent)	60 mL×2瓶	60 mL×3瓶	2-8℃避光保存3个月
试剂五(Reagent 5)	1 mg/mL酚标准品(1 mg/mL Phenol Standard)	1 mL×1支	1 mL×1支	2-8℃避光保存3个月

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：紫外-可见光分光光度计（520 nm）、涡旋混匀仪、37℃恒温箱。

耗材：枪头（1000 μL，200 μL，10 μL ）、EP 管（5 mL，2 mL）、吸水纸、擦镜纸。

试剂：双蒸水、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）。

试剂准备

① 试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 0.1 mg/mL酚标准应用液：

按试剂五：双蒸水为1: 9的体积比稀释，现配现用。

样本准备

① 样本处理

样本要求：样本中不能含有草酸盐和氟化物。ACP 不稳定，尤其在 37℃和 PH 大于 7 的条件下活力丧失较快，因此酸性磷酸酶样本一般需当天准备。

血清血浆等液体样本：直接测定。

组织样本：组织处理的匀浆介质为生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）。匀浆后，4℃，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

细胞样本：取约 10^6 个细胞加入 300-500 μL 生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）匀浆。匀浆后，4℃，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，结合本试剂盒的检测范围（0.27-40 U/100 mL），选取最佳稀释倍数，进行正式批量实验。不同样本的稀释比例范围如下表（仅供参考）：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人乳汁	不稀释	HepG2 细胞匀浆	2-8
人唾液	不稀释	10%小鼠肾匀浆	8-12
人尿液	不稀释	10%小鼠肝匀浆	8-12
人血清	不稀释	10%小鼠脾匀浆	8-12

注：稀释液为生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）。

实验关键点

操作时，置 37℃ 30 min 后应立即加入试剂三与试剂四，避免长时间放置后加样导致结果不准确。

操作步骤

① 空白管：取 50 μL 双蒸水加入到 5 mL EP 管中；
标准管：取 50 μL 0.1 mg/mL 酚标准应用液加入到 5 mL EP 管中；
测定管：取 50 μL 待测样本加入到 5 mL EP 管中。

② 向步骤①各管中，依次分别加入 500 μL 试剂一，500 μL 试剂二，涡旋混匀，置 37℃孵育 30 min，迅速加入 1000 μL 试剂三与 1500 μL 试剂四，立即涡旋混匀，室温静置 10 min。

③ 在 520 nm 波长处，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管吸光度。

操作表

	空白管	**标准管**	**测定管**
双蒸水（μL）	50	--	--
0.1 mg/mL 酚标准应用液（μL）	--	50	--
样本（μL）	--	--	50
试剂一 （μL）	500	500	500
试剂二 （μL）	500	500	500
充分混匀，置 37℃孵育 30 min			
试剂三（μL）	1000	1000	1000
试剂四（μL）	1500	1500	1500
立即混匀，室温静置 10 min，520 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测其吸光度			

本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

结果计算

血清（浆）中 ACP 活力：

定义：100 mL 血清在 37℃与基质作用 30 min 产生 1 mg 酚为 1 个活力单位。

$$\text{血清中 ACP 活力（U/100 mL）} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times m \times \frac{V_1}{V} \times f$$

组织中 ACP 活力：

定义：每克组织蛋白在 37℃与基质作用 30 min 产生 1 mg 酚为 1 个活力单位。

$$\text{组织中 ACP 活力（U/gprot）} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times m \div (C_{pr} \times V) \times f$$

注解：

ΔA_1：样本 OD 值-空白 OD 值

ΔA_2：标准 OD 值-空白 OD 值

m：标准管含酚量（0.005 mg）

C_{pr}：待测样本的蛋白浓度（gprot/mL）

V：加入样本的体积（0.05 mL）

V_1：单位定义中血清体积（100 mL）

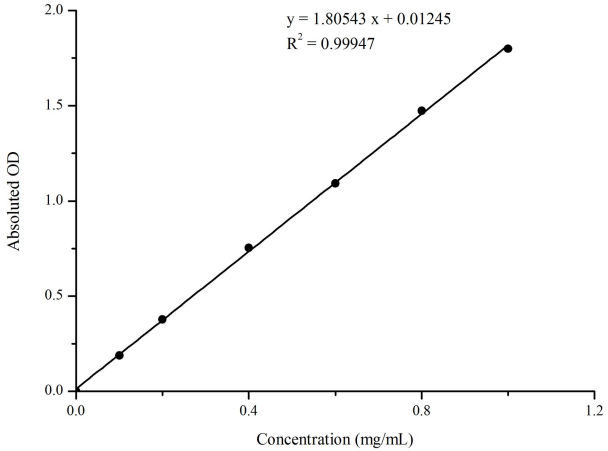
f：样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.27-40 U/100 mL	**平均批间差**	7.1 %
灵敏度	0.27 U/100 mL	**平均批内差**	2.8 %
平均回收率	100 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



附录2 实例分析

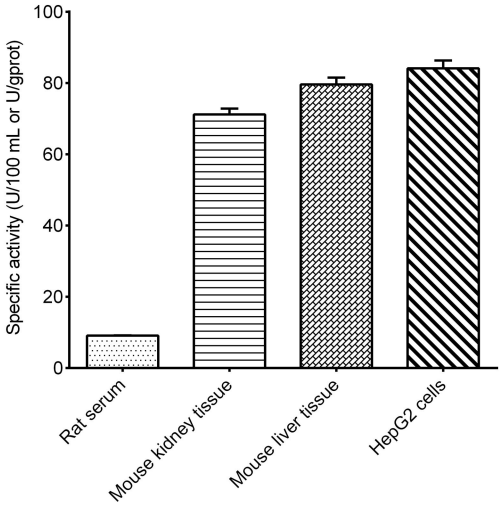
例如检测大鼠血清(数据仅供参考):

取50 μL大鼠血清，按说明书中操作表操作，结果如下：

空白管OD值为0.037，测定管OD值为0.200，标准管OD值为0.215，带入公式计算得：

$$\text{ACP 活力（U/100 mL）}=\frac{0.200-0.037}{0.215-0.037}\times 0.005\times\frac{100}{0.05}=9.16\ \text{U/100 mL}$$

按照操作过程，测定大鼠血清（加样量50 μL）、小鼠肾组织（10%组织匀浆的蛋白含量0.007 gprot/mL，稀释10倍，加样量50 μL）、小鼠肝脏组织（10%组织匀浆的蛋白含量0.013 gprot/mL，稀释10倍，加样量50 μL）及HepG2细胞（蛋白含量0.005 gprot/mL，稀释5倍，加样量50 μL）中酸性磷酸酶活力（如下图）：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	37℃孵育后没有迅速加入试剂三与试剂四	37℃孵育后应迅速加入试剂三与试剂四
	加试剂四后没有充分混匀	加完试剂四后应充分混匀
样本和标准品显色很低	孵育时间太短	保证充足的孵育时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数，重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测
样本测量结果>40 U/100 mL	样本浓度太高	选择合适稀释倍数，重新检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Yuni Hong, Yun-Hyeok Choi, Young-Eun Han, et al. Central Administration of Ampelopsin A Isolated from Vitis vinifera Ameliorates Cognitive and Memory Function in a Scopolamine-Induced Dementia Model[J]. Antioxidants-Basel. 2021 Jun; 10(6):835. IF:6.312
2. Li Q, R Cebrián, M Montalbán-López, et al. Outer-membrane-acting peptides and lipid II-targeting antibiotics cooperatively kill Gram-negative pathogens[J]. Communications Biology, 2021, 4(1). IF:6.268
3. Naseh A, Shirin B, Maryam M,et al.Attenuation of chronic arsenic neurotoxicity via melatonin in male offspring of maternal rats exposed to arsenic during conception: Involvement of oxidative DNA damage and inflammatory signaling cascades[J]. Life Sciences 266 (2021) 118876. IF:5.037
4. Baek S Y, Li F Y, Kim D H, et al. Enteromorpha prolifera extract improves memory in scopolamine-treated mice via downregulating amyloid-β expression and upregulating BDNF/TrkB pathway[J]. Antioxidants, 2020, 9(7): 620. IF:5.014
5. Aydinoglu F, Ad?belli E?, Y?lmaz-Oral D, Ogulener N. Involvement of RhoA/Rho-kinase in l-cysteine/H2S pathway-induced inhibition of agonist-mediated corpus cavernosal smooth muscle contraction. Nitric Oxide. 2019;85:54 鈥?60. IF:3.371
6. Cui Y, Wang Y, Liu G. Protective Effect of Barbaloin in a Rat Model of Myocardial Ischemia Reperfusion Injury Through the Regulation of the CNPY2?PERK Pathway[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2019. IF:2.928
7. Altaf S, Muhammad F, Aslam B, et al. Cell membrane enveloped polymeric nanosponge for detoxification of chlorpyrifos poison: In vitro and in vivo studies[J]. Human & Experimental Toxicology, 2021, 40(8):1286-1295. IF:2.903
8. Song Q Q, NIN J P, Zhang S Y, et al. Effects of Simulated Heat Wave and Ozone on High Fat Diet ApoE Deficient Mice[J]. Biomedical and Environmental Sciences, 2018, 31(10): 757-768. IF:2.518
9. Wang L, Yang Y, Cui Q, et al. Evaluating the added predictive ability of MMP-9 in serum for Kawasaki disease with coronary artery lesions[J]. Journal of Investigative Medicine, 2020. IF:2.304
10. Yilmaz-Oral D, Kaya-Sezginer E, Oztekin C V, et al. Evaluation of combined therapeutic effects of hydrogen sulfide donor sodium hydrogen sulfide and phosphodiesterase type-5

inhibitor tadalafil on erectile dysfunction in a partially bladder outlet obstructed rat model[J]. Neurourology and Urodynamics, 2020, 39(4): 1087-1097. IF:2.037

11. Yilmaz E, Kaya-Sezginer E, Yilmaz-Oral D, et al. Effects of Hydrogen Sulphide Donor, Sodium Hydrosulphide Treatment on the Erectile Dysfunction in L-NAME-induced Hypertensive Rats[J]. Andrologia, 2019. IF:1.84
12. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. J Adv Res. 2022.