（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-M

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪（510-530 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。

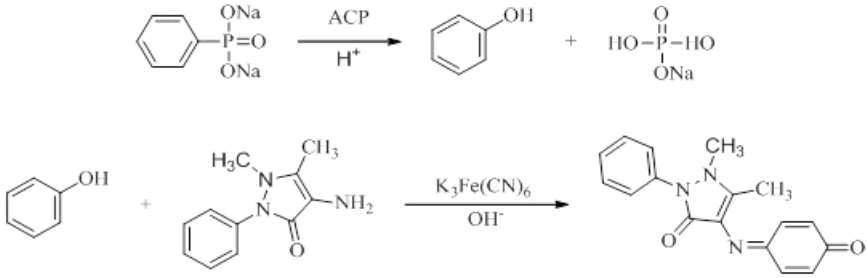
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清（浆）、胸水、尿液、细胞、细胞上清、各种动物组织的 ACP 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 2 (Size 2)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	2 mL×1 瓶	2 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 3 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物基质液 (Substrate Solution)	2 mL×1 支	2 mL×1 支	2-8℃避光 保存 3 个月
试剂三 (Reagent 3)	碱试剂 (Alkali Reagent)	6 mL×1 瓶	6 mL×2 瓶	2-8℃避光 保存 3 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 (Chromogenic Agent)	9 mL×1 瓶	9 mL×2 瓶	2-8℃避光 保存 3 个月
试剂五 (Reagent 5)	1.0 mg/mL 酚标准品 (1.0 mg/mL Phenol Standard)	2 mL×1 瓶	2 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 3 个月

	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

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：酶标仪（510-530 nm，最佳检测波长 520 nm）、涡旋混匀仪、37℃恒温箱。

耗材：枪头（1000 μL，200 μL，10 μL）、EP 管（1.5 mL）。

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 工作液的配制：

按试剂一：试剂二为1：1的体积比混匀，现用现配，未用完的试剂2-8℃可保存1天。

③ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mg/mL)	**0**	**0.1**	**0.2**	**0.4**	**0.5**	**0.6**	**0.8**	**1.0**
1.0 mg/mL 标准品（μL）	0	20	40	80	100	120	160	200
去离子水(μL)	200	180	160	120	100	80	40	0

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。

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 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，不同样本的稀释如下表（仅供参考）：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	HepG2 细胞	不稀释
人唾液	不稀释	人尿液	不稀释
10%大鼠肝脏组织	4-10	鸡血清	不稀释
10%大鼠肾脏组织	4-10		

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

37℃, 30 min 反应后，立即加入试剂三、四。

操作步骤

① 标准孔：取 5 μL 不同浓度标准品，加入到对应的标准孔中；
测定孔：取 5 μL 待测样本，加入到对应的测定孔中；

② 步骤①中的各孔加 25 μL 工作液。

③ 酶标仪震板 10 s，37℃孵育 30 min。

④ 向步骤③中加入 100 μL 试剂三、150 μL 试剂四。

⑤ 酶标仪震板 10 s，室温静置 5 min，酶标液 520 nm 处，测定各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	**测定孔**
不同浓度标准品（μL）	5	--
待测样本（μL）	--	5
工作液（μL）	25	25
酶标仪震板 10 s，37℃孵育 30 min。		
试剂三（μL）	100	100
试剂四（μL）	150	150
酶标仪震板 10 s，室温静置 5 min，酶标仪 520 nm 处，测定各孔 OD 值。		

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

标准品拟合曲线：y = ax + b

血清（浆）等液体样本中 ACP 活力：

定义：100 mL 血清在 37℃与基质作用 30 min 产生 1 mg 酚为一个活力单位。

$$\text{血清中 ACP 活力（U/100 mL）} = (\Delta A_{520} - b) \div a \times V \times f$$

细胞、组织等样本中的 ACP 活力：

定义：每克组织蛋白在 37℃与基质作用 30 min 产生 1 mg 酚为一个活力单位。

$$\text{细胞、组织中 ACP 活力（U/gprot）} = (\Delta A_{520} - b) \div a \div C_{pr} \times f$$

注解：

ΔA_{520}：样本测定 OD 值-空白 OD 值（标准品浓度为 0 时的 OD 值）

V：单位定义中血清体积（100 mL）

f：样本加入检测体系之前的稀释倍数

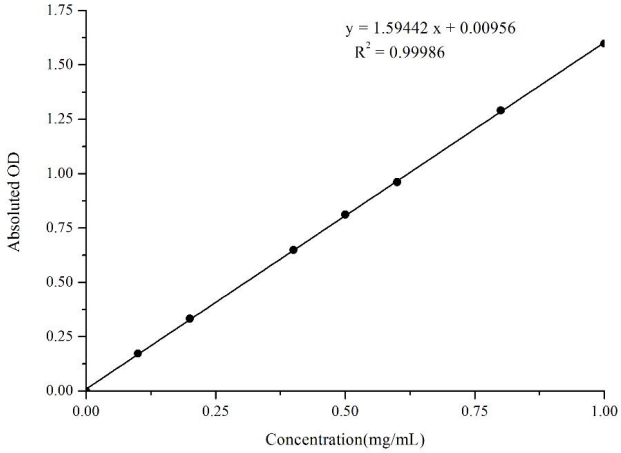
C_{pr}：待测样本的蛋白浓度（gprot/mL）

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	1.40-40 U/100 mL	**平均批间差**	9.4 %
灵敏度	1.40 U/100 mL	**平均批内差**	2.1 %
平均回收率	104 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



附录2 实例分析

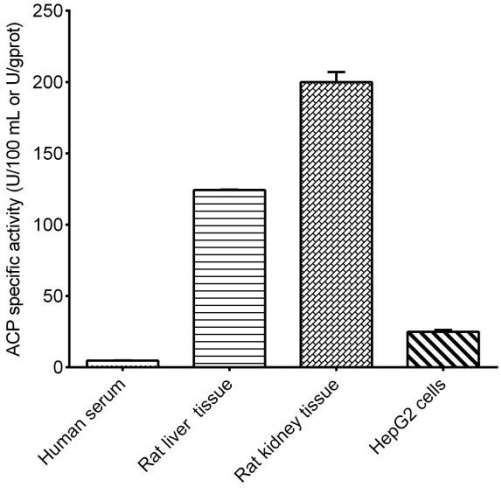
例如检测人血清(数据仅供参考)：

取5 μL人血清，按照操作表检测，结果如下：

ACP的标准曲线：y = 1.59442 x + 0.00956，测定孔平均OD值为0.153，空白OD值为0.071，绝对OD值为0.082，计算结果为：

$$\text{ACP}\ (\text{U/100 mL}) = (0.082 - 0.00956) \div 1.59442 \times 100 = 4.54\ \text{U/100 mL}$$

按照操作过程，测定人血清（加样量5 μL）、大鼠肝脏组织（10%组织匀浆的蛋白含量0.013 gprot/mL，稀释10倍，加样量5 μL）、大鼠肾脏组织（10%组织匀浆的蛋白含量0.007 gprot/mL，稀释10倍，加样量5 μL）及HepG2细胞（蛋白含量0.010 gprot/mL，加样量5 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℃孵育完成后没有迅速的加入试剂三、四	37℃孵育完成后迅速的加入试剂三、四
	试剂四加入后未及时混匀	试剂四加入后及时混匀
样本、标准品显色浅	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	选择合适的稀释倍数，重新检测
	样本保存时间过长或保存不当	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	选择合适的稀释倍数，重新检测

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.