



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
订货热线：400-168-3301或800-8283301  
订货e-mail：order@beyotime.com  
技术咨询：info@beyotime.com  
网址：http://www.beyotime.com

## 酸性磷酸酶检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装
P0326	酸性磷酸酶检测试剂盒	120次

### 产品简介：

- 碧云天生产的酸性磷酸酶检测试剂盒(Acid Phosphatase Assay Kit)是一种用于快速、便捷地检测细胞或组织样品的裂解或匀浆产物的上清液、血浆、血清、尿液等样品中内源性的酸性磷酸酯酶活性的试剂盒。
- 酸性磷酸酶(Acid Phosphatase)，也称酸性磷酸酯酶，是一种在溶酶体中含量较高的酸性水解酶，被认为是鉴定溶酶体亚细胞组分的标志物。酸性磷酸酶是一个蛋白家族，哺乳动物中其分子量从18kD到100kD不等。酸性磷酸酶分为两类，一类为酒石酸盐敏感型，一类为氟离子敏感型。溶酶体中的酸性磷酸酶为酒石酸盐敏感型，而红细胞和巨噬细胞中的酸性磷酸酶为氟离子敏感型。
- 血浆中的酸性磷酸酶活性范围在2-7.9U/L，血清中酸性磷酸酶的活性范围在2.5-11.7U/L。精液(semen)中含有高浓度的酸性磷酸酯酶，活力可以达到87-436KU/L。
- 本试剂盒可以检测细胞或组织样品的裂解或匀浆产物的上清液、血浆、血清、尿液或纯化的酶样品等中的酸性磷酸酶活性。
- Para-nitrophenyl phosphate (pNPP) 是一种常用的磷酸酶显色底物，在酸性条件下，可在酸性磷酸酶作用下生成 para-nitrophenol。para-nitrophenol (*p*-nitrophenol) 在碱性条件下，呈黄色产物，可以在400-415nm检测吸光度。产物黄色越深，说明酸性磷酸酶活性越高，反之则酶活性越低。据此通过比色分析就可以计算出酸性磷酸酶活性水平。
- 包括标准品和空白对照，本试剂盒共可进行120个样品的检测。

### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
P0326-1	检测缓冲液	15ml
P0326-2	显色底物	2管
P0326-3	<i>p</i> -nitrophenol溶液(10mM)	0.1ml
P0326-4	反应终止液	20ml
—	说明书	1份

### 保存条件：

-20°C保存，一年有效。显色底物和*p*-nitrophenol溶液需避光保存。

### 注意事项：

- 如果希望进行酶活性的绝对定量，进行酶反应时必须注意精确计时。此时推荐采用孵育30分钟等较长的时间，以减小操作过程中时间误差。同时如果样品中酶活性较高，则可以预先适当稀释样品。
- 样品溶液中须避免出现各种酸性磷酸酶抑制剂。
- 一管显色底物配制后需当日使用完毕，因此请注意适当多准备一些样品一起检测，以避免试剂盒浪费。
- *p*-nitrophenol溶液对人体有害，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。反应终止液有腐蚀性，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或腐蚀其他物品。
- 本产品仅限于专业人员的科学的研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明：

1. 试剂准备：将所有试剂取出，恢复至室温使用。
  - a. 显色底物溶液：取一管显色底物，溶解于2.5ml的检测缓冲液中，充分溶解和混匀，冰上放置。新鲜配制的显色底物溶液需在6小时内使用。
  - b. 标准品工作液：取10μl *p*-nitrophenol溶液(10mM)，用检测缓冲液稀释至0.2ml，最终浓度为0.5mM。
2. 样品准备：
  - a. 细胞或组织裂解液的准备：采用适当细胞或组织裂解液裂解细胞或组织，建议使用碧云天的 P0013J Western 及 IP 细胞裂解液(无抑制剂)裂解相关样品。如果有必要需进行适当匀浆，随后离心取上清，用于酸性磷酸酯酶的检测。注意：裂解液中不能含有磷酸酶抑制剂。样品可以-80°C冻存，但需避免反复冻融。
  - b. 血浆、血清和尿液的准备：血浆和血清按照常规方法制备后可以直接用于本试剂盒的测定，但为了消除样品本身颜色的干扰，需设置加了血浆或血清但不加底物的对照。尿液通常也可以直接用于测定。上述样品可以-80°C冻存，但需避免反

复冻融。

- c. 样品的稀释：如果样品中含有较高活性的酸性磷酸酶，可以使用原有的裂解液或PBS等进行稀释，也可以采用试剂盒中的检测缓冲液进行稀释。如果使用试剂盒中提供的检测缓冲液进行稀释，需注意保留足够的检测缓冲液用于试剂盒的检测过程。
3. 参考下表使用96孔板设置空白对照孔、标准品孔和样品孔。标准品的用量分别为4、8、16、24、32和40微升，样品通常可以直接加40微升。如果样品中的酸性磷酸酯酶活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。样品的检测最好能设置平行孔或三复孔。

	空白对照(Blank)	标准品(Standard)	样品(Sample)
检测缓冲液	40μl	(80-x)μl	(40-y)μl
显色底物	40μl	—	40μl
样品	—	—	yμl
标准品工作液	—	xμl	—

4. 用枪头轻轻吹打混匀，也可借助摇床进行混匀。
5. 37°C孵育5-10分钟。(说明：待测样品中酸性磷酸酶活性较低时，可适当延长孵育时间至30分钟)
6. 每孔加入160μl反应终止液终止反应。此时，标准品或有酸性磷酸酯酶活性的孔会呈现不同深浅的黄色。
7. 在405nm测定吸光度。如果不能测定405nm，也可以在400-415nm范围内检测吸光度。如果不能立即测定，可以在数小时内完成测定，所显现的黄色在数小时内稳定。
8. 酸性磷酸酶活性单位的定义：在pH4.8, 37°C条件下，每分钟水解para-nitrophenyl phosphate显色底物产生1微摩尔p-nitrophenol所需的酸性磷酸酶的量定义为一个酶活力单位。
9. 根据酶活性定义，计算出样品中的酸性磷酸酯酶活性。

## 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
P0013J	Western及IP细胞裂解液(无抑制剂)	100ml
P0321	碱性磷酸酶检测试剂盒	100次
P0326	酸性磷酸酶检测试剂盒	120次
P0329	胎盘碱性磷酸酶检测试剂盒	100次
P0332	抗酒石酸酸性磷酸酶检测试剂盒	120次
P0335	抗氟离子酸性磷酸酶检测试剂盒	120次

## 使用本产品的文献：

1. L Deng, F Chen, L Jiang, HM Lam, G Xiao. Ectopic expression of GmPAP3 enhances salt tolerance in rice by alleviating oxidative damage. Plant Breeding. 2014 Jun;133(3):348-55.
2. Li MF, Zhang BC, Li J, Sun L. Sil: a Streptococcus iniae bacteriocin with dual role as an antimicrobial and an immunomodulator that inhibits innate immune response and promotes S. iniae infection. PLoS One. 2014 Apr 29;9(4):e96222.
3. Zhang C, Wang Q, Xi X, Jiao J, Xu W, Huang J, Lai Z. High serum miR-183 level is associated with the bioactivity of macrophage derived from tuberculosis patients. Int J Clin Exp Pathol. 2015 Jan 1;8(1):655-9.
4. Sun Y, Sun L2. CsBAFF, a Teleost B Cell Activating Factor, Promotes Pathogen-Induced Innate Immunity and Vaccine-Induced Adaptive Immunity. PLoS One. 2015 Aug 21;10(8):e0136015.
5. Li MF, Wang C, Sun L. Edwardsiella tarda MliC, a lysozyme inhibitor that participates in pathogenesis in a manner that parallels Ivy. Infect Immun. 2015 Feb;83(2):583-90.
6. Liu X, Wang J, Lu C, Zhu C, Qian B, Li Z, Liu C, Shao J, Yan J. The role of lysosomes in BDE 47-mediated activation of mitochondrial apoptotic pathway in HepG2 cells. Chemosphere. 2015 Apr;124:10-21.
7. Ji X, Xu B, Yao M, Mao Z, Zhang Y, Xu G, Tang Q, Wang X, Xia Y. Graphene oxide quantum dots disrupt autophagic flux by inhibiting lysosome activity in GC-2 and TM4 celllines. Toxicology. 2016 Dec 30;374:10-17.
8. Jiang Y, Gou H, Wang S, Zhu J, Tian S, Yu L. Effect of Pulsed Electromagnetic Field on Bone Formation and Lipid Metabolism of Glucocorticoid-Induced Osteoporosis Rats through Canonical Wnt Signaling Pathway. Evid Based Complement Alternat Med. 2016;2016:4927035.
9. Zhu L, Kang H, Guo CA, Fan WS, Wang YM, Deng LF, Yan ZQ. Rifampin suppresses osteoclastogenesis and titanium particle-induced osteolysis via modulating RANKL signaling pathways. Biochem Biophys Res Commun. 2017 Feb 26;484(1):64-70.
10. Li Y, Song X, Wang W, Wang L, Yi Q, Jiang S, Jia Z, Du X, Qiu L, Song L. The hematopoiesis in gill and its role in the immune response of Pacific oyster Crassostrea gigas against secondary challenge with Vibrio splendidus. Dev Comp Immunol. 2017 Jan 31. pii: S0145-305X(16)30442-6.

Version 2017.09.14