

抗酒石酸酸性磷酸酶 (StrACP) 测试盒说明书(精简版)

(货号: A058-1-1 50 管/24 样)

免责声明: 测试前请仔细阅读说明书, 预试后再进行批量实验, 否则由此导致的后果用户自行承担!

一、试剂组成与配制: (试剂盒有效期 3 个月)

试剂一: 液体 16mL×1 瓶, 4℃ 保存, 若出现结晶在沸水浴中隔水加热溶解即可。

试剂二: 粉剂×3 支, 4℃ 保存, 2 号稀释液 10mL×3 瓶, 4℃ 保存, 用时每支粉剂加 2 号稀释液 10mL 溶解后备用, 4℃ 可保存 7~10 天。

试剂三: 粉剂×1 支, 4℃ 保存, 3 号稀释液 30mL×1 瓶, 4℃ 保存, 用时 1 支粉剂加 30mL 稀释液溶解后备用, 4℃ 避光保存。

试剂四: 液体 60mL×1 瓶, 室温保存。

试剂五: 液体 6mL×1 瓶, 4℃ 保存。

二、所需仪器耗材及试剂:

含 30nm 波长的分光光度计及 1cm 光径比色皿、37℃ 水浴锅或恒温箱、100℃ 水浴锅或电炉及烧杯、台式低速离心机、各种规格移液器、双蒸水、生理盐水 (0.9%) 或 PBS (0.1M)、涡旋混匀器、试管或离心管、蛋白测定试剂 (组织及细胞样本用, 本公司有售)。

三、操作过程:

1、样本前处理:

①、**血清(浆)样本:** (采血时必须避免溶血。)血清(浆)直接使用, 样本 4℃ 存放最好当天检测, 如来不及可放零度以下冷冻保存, 温度越低存放时间越长。

②、**组织样本:** 准确称取待测组织的重量, 按重量 (g): 体积 (mL)=1:9 的比例, 加入 9 倍体积的生理盐水, 冰水浴条件下机械匀浆, 制成 10% 的组织匀浆 2500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清液进行测定。(取部分上清液测定蛋白浓度, 蛋白定量试剂盒本所有售, 推荐使用本所的考马斯亮蓝法蛋白定量试剂盒)

③、**细胞样本:** 收集细胞 (贴壁胰酶消化或细胞刮刮下, 转移到离心管中 1000-2000 转/分钟离心 5 分钟后弃去上清留沉淀, 悬浮细胞直接转以后离心收集沉淀), 加 0.5-1mL 的 PBS 清洗 1~2 次, 1000-2000 转/分钟离心收集沉淀细胞, 再加入 0.3~0.5mL 0.1M PH 7.4 的等渗 PBS 缓冲液悬浮细胞, 超声或手动研磨破碎细胞, 取破碎后的细胞悬液 (若悬液有明显颗粒物或絮状物, 可 2000 转/分钟离心 10 分钟后取上清使用) 待测。

2、操作表:

	测定管	对照管
样本 (mL)	0.05	
试剂一 (mL)	0.3	0.3
试剂二 (mL)	0.5	0.5
混匀, 37℃ 准确反应 15 分钟		
试剂三 (mL)	0.5	0.5
混匀, 37℃ 准确反应 10 分钟		
试剂四 (mL)	1.0	1.0
试剂五 (mL)	0.1	0.1
样本 (mL)		0.05
混匀, 室温静置 5 分钟, 波长 530nm, 1cm 光径, 双蒸水调零, 分光光度计测定各管吸		

光度值。

[注]: 天冷时, 比色前若发生浑浊, 置 37℃ 水浴, 澄清后再比色。

四、定义及计算:

1、血清(浆)中 StrACP 的计算:

①、**单位定义:** 每升血清在 37℃ 与底物作用, 1 分钟产生 1μmol 的游离酚为一个活力单位。

②、**计算公式:**

$$\text{StrACP 活力 (U/L)} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}}{\epsilon \times d \times T} \times \frac{V_{\text{反应}}}{V_{\text{样}}}$$

ϵ : 呈色物微摩尔消光系数为 $12.8 \times 10^{-3} \text{L} \cdot \mu\text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$;

d : 比色光径, 1cm;

T : 反应时间, 15 分钟;

$V_{\text{反应}}$: 反应液总体积, 2.45mL;

$V_{\text{样}}$: 取样量, 0.05mL。

2、组织(细胞)中 StrACP 的计算:

①、**单位定义:** 每克组织(细胞)蛋白 37℃ 与底物作用, 1 分钟产生 1μmol 的游离酚为一个活力单位。

②、**计算公式:**

$$\text{StrACP 活力 (U/gprot)} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}}{\epsilon \times d \times T} \times \frac{V_{\text{反应}}}{V_{\text{样}}} \div \text{Cpr}$$

ϵ : 呈色物微摩尔消光系数为 $12.8 \times 10^{-3} \text{L} \cdot \mu\text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$;

d : 比色光径, 1cm;

T : 反应时间, 15 分钟;

$V_{\text{反应}}$: 反应液总体积, 2.45mL;

$V_{\text{样}}$: 取样量, 0.05mL;

Cpr : 匀浆蛋白浓度, gprot/L (prot 指蛋白)。

五、测定原理:

抗酒石酸酸性磷酸酶 (StrACP) 活性不被酒石酸抑制, 而其他 ACP 受到酒石酸抑制, 利用这一原理, 可以测定 StrACP 的活性。StrACP 酶催化底物水解, 产生游离酚; 酚与重氮盐反应生成有色偶氮化合物, 在 530nm 处比色测定, 通过计算可测出酶的活力。