

前列腺酸性磷酸酶 (PACP) 测定试剂盒说明书(精简版)

(货号: A049-1-1 比色法 50管/25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、测定原理:

酸性磷酸酶 ACP 催化 α -萘酚磷酸盐水解,产生 α -萘酚和无机磷酸盐; α -萘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。ACP 分成可被酒石酸抑制的 ACP 及不被酒石酸抑制的 ACP (非 PACP),同一份样本若用含酒石酸与不含酒石酸的两种底物测定,二者测定值之差代表前列腺 ACP (PACP) 的活力。

二、试剂组成与配制:(试剂盒有效期 3 个月)

试剂一: 液体 15mL×1 瓶,4℃保存,若出现结晶加热溶解即可。

试剂二: 贮备液 15mL×1 瓶,4℃保存。用时按**贮备液:双蒸水=1:9**的比例进行配制成**试剂二应用液**,配好后 4℃保存。

试剂三: 粉剂×1 支,用时每支粉剂加**试剂二应用液** 60mL,4℃保存。

试剂四: 粉剂×1 支,4 号稀释液 60mL×1 瓶,用时 1 支粉剂加 60mL 4 号稀释液,配成 4 号应用液。4 号应用液 4℃避光保存。

试剂五: 液体 60mL×1 瓶,室温保存。

三、所需仪器耗材及试剂:

含 530nm 波长的分光光度计及 1cm 光径比色皿、37℃水浴锅或恒温箱、台式低速离心机、各种规格移液器、双蒸水、生理盐水 (0.9%)、涡旋混匀器、试管或离心管、蛋白测定试剂 (组织样本用,本公司有售)。

四、操作步骤:

1、样本前处理:

①、**血清(浆)样本:** 血清(浆)直接加样,样本 4℃存放最好当天检测,如来不及可-20℃以下冷冻保存,温度越低存放时间越长。(采血时必须避免溶血)

②、**组织样本:** 准确称取组织重量,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%的匀浆,2500 转/分,离心 10 分钟,取上清液进行测定

2、操作表:

	测定管	对照管
样本 (mL)	a*	a*
试剂一 (mL)		0.25
试剂二应用液 (mL)	0.25	
试剂三 (mL)	0.5	0.5
混匀,37℃准确反应 15 分钟		
试剂四 (mL)	0.5	0.5
混匀,37℃准确反应 10 分钟		
试剂五 (mL)	1.0	1.0
混匀,室温静置 5 分钟,530nm,1cm 光径,双蒸水调零测各管吸光度。		

***参考取样量:** 血清(浆)取 100 μ L,10%组织匀浆取 100 μ L。

五、计算:

(一)、血清(浆)中 PACP 活力的计算:

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

2、计算公式:

$$\text{PACP 活力 (U/L)} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}}{\epsilon} \times \frac{1}{d \times T} \times \frac{V_{\text{反应}}}{V_{\text{样}}}$$

ϵ : 呈色物消光摩尔系数, $12.8 \times 10^{-3} \text{L} \cdot \mu\text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$;

d : 比色光径, cm;

T : 反应时间, 15min;

$V_{\text{反应}}$: 反应液总体积, mL;

$V_{\text{样}}$: 样本加入量, mL。

(二)、组织匀浆中 PACP 活力的计算:

1、**定义:** 每克组织蛋白在 37℃与底物作用,每分钟产生 1 μ mol 的游离酚为一个活力单位。

2、计算公式:

$$\text{PACP 活力 (U/gprot)} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}}{\epsilon} \times \frac{1}{d \times T} \times \frac{V_{\text{反应}}}{V_{\text{样}} \times \text{Cpr}}$$

ϵ : 呈色物消光摩尔系数, $12.8 \times 10^{-3} \text{L} \cdot \mu\text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$;

d : 比色光径, cm;

T : 反应时间, 15min;

$V_{\text{反应}}$: 反应液总体积, mL;

$V_{\text{样}}$: 样本加入量, mL。

Cpr : 组织匀浆蛋白浓度, gprot/L (prot 指蛋白)。