# 酸性磷酸酶（ACP）活性检测试剂盒说明书

规格：48 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。

3. 本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

| 试剂名称 | 试剂规格 | 保存条件 | 备注 |
|---|---|---|---|
| 试剂一 | 105 mL×1 | | |
| 试剂二 | 50 mL×1 | | |
| 试剂三 | 50 mL×1 | | |

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1. 组织：按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）进行冰浴匀浆，然后，10000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

2. 细胞/细菌：按照细胞/细菌数量（$10^4$个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 试剂一），冰浴超声波破碎细胞/细菌（功率 200 w，超声 3 秒，间隔 10 秒，重复 30 次）；然后 10000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

3. 液体样本：直接测定。

五、测定步骤：

1.酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 405 nm 处。

2.在 96 孔板中依次加入：

| | 测定管 | 对照 |
|---|---|---|
| 样本（μL） | 10 | 10 |

| | | |
|---|---|---|
| 试剂一（μL） | 90 | 990 |
| 试剂二（μL） | 900 | - |
| 30℃避光保温 30 min。 | | |
| 试剂三（μL） | 400 | 400 |
| 充分混匀后，吸取 200 μL 于 96 孔板中，测定 405 nm 处吸光度值，记 A 测定 、A 对照，ΔA=A 测定-A 对照，每个测定管需设置一个对照管。 | | |

六、计算：

标准方程

标准条件下测得回归方程为标准曲线 $y = 7.3336x + 0.0179$；$R^2 = 0.9996$；x 为标准品浓度（μmol/mL），y 为吸光值ΔA。

1. 按照样本质量计算：

活性单位定义：30℃中每克组织每分钟催化产生 1 μmol 4-硝基苯酚定义为 1 个酶活单位。

酸性磷酸酶活力（**μmol/min/g** 鲜重）=（ΔA-0.0179）÷7.3336 ×V 反总÷T÷（W×V 样÷V 样总）= 0.4545 ×（ΔA-0.0179）÷W

2. 按细胞/细菌计算：

活性单位定义：30℃中每 $10^4$ 个细菌或细胞每分钟催化产生 1 μmol 4-硝基苯酚定义为 1 个酶活单位。

酸性磷酸酶活力（**μmol/min/$10^4$ cell**）=（ΔA-0.0179）÷7.3336 ×V 反总÷T ÷（N×V 样÷V 样总）= 0.4545 ×（ΔA-0.0179）÷N

3. 按样品体积计算：

活性单位定义：30℃中每毫升样品每分钟催化产生 1 μmol 4-硝基苯酚定义为 1 个酶活单位。

酸性磷酸酶活力（**μmol/min/mL**）=（ΔA-0.0179）÷7.3336 ×V 反总÷T÷V 样 = 0.4545 ×（ΔA-0.0179）

V 反总：反应体系总体积（mL）， 1 mL；W：样品质量，g；V 样：加入反应体系中样本体积（mL），0.01 mL；V 样总：提取液体积，1 mL；T：反应时间（min），30 min；N：细胞/细菌（万个）。

七、产品简介

酸性磷酸酶是植物磷代谢关键功能酶，检测其活性可反映植株吸收、利用磷素的生理能力。 该酶活性高低能体现植物缺磷胁迫响应水平，也是评价饲草、作物养分利用效率的重要生化指标。