



抗氟离子酸性磷酸酶 (FRAP) 活性检测试剂盒

Fluoride Resistant Acid Phosphatase (FRAP) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## 抗氟离子酸性磷酸酶（FRAP）活性检测试剂盒

## Fluoride Resistant Acid Phosphatase (FRAP) Activity Assay Kit

## 一、产品描述

酸性磷酸酶（ACP）是一种非特异性磷酸单酯酶，可催化大部分磷酸单酯水解反应，生成无机磷酸和相应的醇、酚和糖等，抗氟离子酸性磷酸酶（FRAP）是酸性磷酸酶的一种，主要分布于细胞的溶酶体中、以及前列腺、脑、肝脏、脾脏等组织中，在细胞信号传导、细胞凋亡和免疫反应等方面具有重要的生物学功能和应用价值。

酸性磷酸酶活性在氟离子环境中会受到明显抑制，而抗氟离子酸性磷酸酶能够保持活性不受抑制，并催化 PNPP 生成对-硝基苯酚，产物在 400 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征抗氟离子酸性磷酸酶的活性。

## 二、产品内容

| 名称                                                                        | 试剂规格               | 储存条件     | 使用方法及注意事项                                         |
|---------------------------------------------------------------------------|--------------------|----------|---------------------------------------------------|
| 提取液                                                                       | 液体 30 mL×1 瓶       | 4°C 保存   | -                                                 |
| 试剂一                                                                       | 液体 4 mL×1 瓶        | 4°C 保存   | -                                                 |
| 试剂二                                                                       | 液体 3.6 mL×1 瓶      | 4°C 保存   | -                                                 |
| 试剂三                                                                       | 粉剂×1 瓶             | -20°C 保存 | 使用前加入 3.5 mL 蒸馏水充分溶解<br>(分装后-20°C可保存 1 个月，避免反复冻融) |
| 试剂四                                                                       | 粉剂×1 瓶             | 4°C 保存   | 使用前加入 5.5 mL 蒸馏水充分溶解<br>(配制后 4°C可保存 1 个月)         |
| 试剂五                                                                       | 液体 500 $\mu$ L×1 支 | 4°C 保存   | 使用前按试剂五：蒸馏水=1:9 体积比配制<br>(根据使用量现用现配，即为试剂五应用液)     |
| 试剂六                                                                       | 液体 3.5 mL×1 瓶      | 4°C 保存   | -                                                 |
| 试剂七                                                                       | 液体 3.5 mL×1 瓶      | 4°C 保存   | -                                                 |
| 试剂八                                                                       | 液体 40 mL×1 瓶       | 4°C 保存   | -                                                 |
| 标准液                                                                       | 液体 1 mL×1 支        | 4°C 保存   | 5 $\mu$ mol/mL 酚标准液                               |
| 标准应用液的制备（现用现配）：使用前将 5 $\mu$ mol/mL 酚标准液使用蒸馏水稀释至 0.5 $\mu$ mol/mL 即为标准应用液。 |                    |          |                                                   |

### 三、产品使用说明

**测定过程中所需要的仪器和试剂：**可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

#### 1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1:（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（ $10^4$  个）：提取液体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

#### 2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 400 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂（避光条件下进行）：

| 试剂                  | 测定管<br>( $\mu$ L) | 对照管<br>( $\mu$ L) | 标准管<br>( $\mu$ L) | 空白管<br>( $\mu$ L) |
|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 粗酶液                 | 50                | 50                | -                 | -                 |
| 标准应用液               | -                 | -                 | 50                | -                 |
| 蒸馏水                 | -                 | 50                | -                 | 50                |
| 试剂一                 | 50                | 50                | 50                | 50                |
| 试剂二                 | 50                | 50                | 50                | 50                |
| 试剂三                 | 50                | -                 | 50                | 50                |
| 试剂四                 | 50                | 50                | 50                | 50                |
| 试剂五应用液              | 50                | 50                | 50                | 50                |
| 试剂六                 | 50                | 50                | 50                | 50                |
| 试剂七                 | 50                | 50                | 50                | 50                |
| 充分混匀，37℃准确反应 30 min |                   |                   |                   |                   |
| 试剂八                 | 600               | 600               | 600               | 600               |

**吸光值测定：**将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 400 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个样品均需设一个对照管，空白管只需测定 1-2 次。

### 3.抗羧离子酸性磷酸酶（FRAP）活性计算

#### ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：37℃条件下，每 mg 组织蛋白每分钟催化生成 1 nmol 酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{FRAP (U/mg prot)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样}} \times 10^3}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times \Delta A_{\text{标准}} \times T} = \frac{16.67 \times \Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

#### ②按组织样本质量计算

单位定义：37℃条件下，每 g 组织样本每分钟催化生成 1 nmol 酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{FRAP (U/g)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样总}} \times 10^3}{W \times \Delta A_{\text{标准}} \times T} = \frac{16.67 \times \Delta A_{\text{测定}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

#### ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：37℃条件下，每 10<sup>4</sup> 个细菌或细胞每分钟催化生成 1 nmol 酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{FRAP (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样总}} \times 10^3}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A_{\text{标准}} \times T} = \frac{16.67 \times \Delta A_{\text{测定}}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

#### ④按液体样本体积计算

单位定义：37℃条件下，每 mL 液体样本每分钟催化生成 1 nmol 酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{FRAP (U/mL)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样}} \times 10^3}{V_{\text{样}} \times \Delta A_{\text{标准}} \times T} = \frac{16.67 \times \Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{标准}}}$$

**注释：**C 标：标准应用液浓度，0.5 μmol/mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.05 mL；

V 样总：粗酶液总体积，1 mL；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；细菌或细胞数量：

以万计；T：反应时间，30 min；10<sup>3</sup>：单位换算系数，1 μmol/mL=10<sup>3</sup> nmol/mL。

### 四、注意事项

①若 A 测定或 ΔA 测定大于 1.2，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定；若 ΔA 测定小于 0.02，建议适当延长酶促反应时间（37℃反应时间）或增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

