



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 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 1.5 mL×1 支	4°C保存	-
试剂二	液体 1.2 mL×1 支	4°C保存	-
试剂三	粉剂×2 支	-20°C保存	使用前每支加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (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 (配制后 4°C可保存 1 个月)
试剂五	液体 300 μ L×1 支	4°C保存	使用前按试剂五：蒸馏水=1:9 体积比配制 (根据使用量现用现配，即为试剂五应用液)
试剂六	液体 1.2 mL×1 支	4°C保存	-
试剂七	液体 1.2 mL×1 支	4°C保存	-
试剂八	液体 15 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C保存	5 μ mol/mL 酚标准液
标准应用液的制备（现用现配）：使用前将 5 μ mol/mL 酚标准液使用蒸馏水稀释至 1 μ 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/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、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分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 400 nm，蒸馏水调零。

②在 96 孔板或离心管中依次加入下列试剂（避光条件下进行）：

试剂	测定组 (μ L)	对照组 (μ L)	标准组 (μ L)	空白组 (μ L)
粗酶液	10	10	-	-
标准应用液	-	-	10	-
蒸馏水	-	10	-	10
试剂一	10	10	10	10
试剂二	10	10	10	10
试剂三	10	-	10	10
试剂四	10	10	10	10
试剂五应用液	10	10	10	10
试剂六	10	10	10	10
试剂七	10	10	10	10
充分混匀，37℃准确反应 30 min				
试剂八	120	120	120	120

吸光值测定：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 ΔA 测定 = A 测定 - A 对照， ΔA 标准 = A 标准 - A 空白。注：每个样品均需设一个对照组，空白组只需测定 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。

$$\text{FRAP (U/mg prot)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样}} \times 10^3}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times \Delta A_{\text{标准}} \times T} = \frac{33.33 \times \Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

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。

$$\text{FRAP (U/g)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样总}} \times 10^3}{W \times \Delta A_{\text{标准}} \times T} = \frac{33.33 \times \Delta A_{\text{测定}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：37℃条件下，每 10⁴ 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。

$$\text{FRAP (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样总}} \times 10^3}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A_{\text{标准}} \times T} = \frac{33.33 \times \Delta A_{\text{测定}}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

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。

$$\text{FRAP (U/mL)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样}} \times 10^3}{V_{\text{样}} \times \Delta A_{\text{标准}} \times T} = \frac{33.33 \times \Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{标准}}}$$

注释： C 标：标准应用液浓度，1 μmol/mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 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；10³：单位换算系数，1 μmol/mL=10³ 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.

