

# 抗氟离子酸性磷酸酶 (FRAP) 活性检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA2160

产品规格: 100T/48S

## 产品简介:

抗氟离子酸性磷酸酶(fluid resistant acid phosphatase, FRAP)是酸性磷酸酶的一种。抗氟离子酸性磷酸酶主要分布于在绝大多数细胞的溶酶体中、前列腺(prostate gland)、脑、肝脏、脾脏和血小板。

抗氟离子酸性磷酸酶的活性不被氟离子抑制,而其他的酸性磷酸酶的活性则会受到氟离子的抑制。酸性条件下,抗氟离子酸性磷酸酶催化PNPP生成对硝基苯酚。对硝基苯酚在碱性条件下呈黄色,可以在400nm波长下检测吸光度。产物黄色越深,说明抗氟离子酸性磷酸酶活性越高,反之则酶活性越低。



## 产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体60mL×1瓶	2-8°C
试剂一	液体1.5mL×1支	2-8°C
试剂二	液体1.2mL×1支	2-8°C
试剂三	粉剂×2支	-20°C
试剂四	粉剂×1瓶	2-8°C
试剂五	液体0.3mL×1支	2-8°C
试剂六	液体1.2mL×1瓶	2-8°C
试剂七	液体1.2mL×1瓶	2-8°C
试剂八	液体15mL×1瓶	2-8°C
标准品	液体1ml×1支	2-8°C

## 溶液的配制:

1. 试剂三: 临用前加入1mL蒸馏水,充分溶解,未用完的试剂-20°C保存可以保存4周,避免反复冻融。一支试剂溶解后可以做100T,为了延长试剂盒使用时间,因此多给一支粉剂。
2. 试剂四: 临用前加入5.5mL蒸馏水,充分溶解,未用完的试剂2-8°C保存可以保存4周。
3. 试剂五: 临用前根据样本量按照试剂五:蒸馏水=1:9的比例配制,现用现配。
4. 标准品: 5 $\mu$ mol/mL酚标准液。临用前取100 $\mu$ L的5 $\mu$ mol/mL酚标准液于EP管中,加入300 $\mu$ L蒸馏水充分溶解,配制成1.25 $\mu$ mol/mL的酚标准液。

## 需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、分析天平、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器/超声破碎仪、蒸馏水和冰。

## 操作步骤:

### 一、样本处理 (可适当调整待测样本量,具体比例可以参考文献)

1. 组织: 按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例(建议称取约0.1g组织,加入1mL提取液),进行冰浴匀浆。8000g 4°C离心10min,取上清,置冰上待测。
2. 细菌或培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;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1mL提取液),超声波破碎细菌或细胞(冰



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司  
Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

3. 液体：直接测定。（若溶液呈现浑浊，则离心取上清后再测定）。

## 二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 400nm，可见分光光度计用蒸馏水调零。

2. 操作表：（在 EP 管中加入下列试剂）

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	标准空白管
样本	10	10	-	-
标准品	-	-	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	10	10	10	10
试剂六	10	10	10	10
试剂七	10	10	10	10
37℃避光反应 1 小时			-	-
试剂八	120	120	120	120

混匀后，测定在 400nm 处的吸光度，记作  $A_{\text{测定}}$ ， $A_{\text{对照}}$ ， $A_{\text{标准}}$ ， $A_{\text{标准空白}}$ 。 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{标准空白}}$ 。（标准管和标准空白管只需做 1-2 次。）

## 三、TRAP 活性计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1nmol 酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{FRAP 活性 (U/mg prot)} = (\Delta A_{\text{测定}} \times C_{\text{标准}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{样}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T \times 10^3 \times F = 41.67 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times F$$

(2) 按样本质量计算

单位的定义：每 g 组织每分钟催化产生 1nmol 酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{FRAP 活性 (U/g 质量)} = (\Delta A_{\text{测定}} \times C_{\text{标准}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{样}} \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T \times 10^3 \times F = 41.67 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F$$

(3) 按细菌或细胞数目计算

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 1nmol 酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{FRAP 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = (\Delta A_{\text{测定}} \times C_{\text{标准}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{样}} \div (N \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T \times 10^3 \times F = 41.67 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F$$

(4) 按血清（浆）等液体体积计算

单位的定义：每 mL 血清（浆）等液体每分钟催化产生 1nmol 酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{FRAP 活性 (U/mL)} = (\Delta A_{\text{测定}} \times C_{\text{标准}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T \times 10^3 \times F = 41.67 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F$$

$C_{\text{标准}}$ : 酚标准液, 1.25μmol/mL ;  $V_{\text{样}}$ : 反应体系中加入的样本体积, 0.01mL;  $V_{\text{样总}}$ : 加入的提取液体积, 1mL;

$T$ : 反应时间, 30min;  $C_{\text{pr}}$ : 蛋白质浓度, mg/mL;  $W$ : 样本质量, g;  $10^3$ : 单位换算系数, 1μmol/mL=10<sup>3</sup>nmol/mL;

$N$ : 细胞或细菌数量, 以万计;  $F$ : 样本稀释倍数。

## 注意事项:

如果测定的吸光值或 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 1.5，可以对样本用蒸馏水进行稀释或者缩短 37℃酶促反应时间；测定的吸光值或 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.01，可以加大样本量或者延长 37℃酶促反应时间。最终计算时同步修改计算公式。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com