



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

抗氟离子酸性磷酸酶检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装
R32778-120T	抗氟离子酸性磷酸酶检测试剂盒	120T

产品简介:

源叶生产的抗氟离子酸性磷酸酶检测试剂盒(Fluoride Resistant Acid Phosphatase Assay Kit)是一种用于快速、便捷地检测细胞或组织样品的裂解或匀浆产物的上清液、血浆、血清、尿液等样品中内源性的抗氟离子酸性磷酸酯酶活性的试剂盒。

酸性磷酸酶(Acid Phosphatase), 也称酸性磷酸酯酶, 在酸性条件下可以催化磷酸酯键的水解。酸性磷酸酶是一个蛋白家族, 哺乳动物中其分子量从 18kD 到 100kD 不等。酸性磷酸酶主要分为两类, 一类为抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, TRAP), 一类为抗氟离子酸性磷酸酶(fluoride resistant acid phosphatase, FRAP)。

抗氟离子酸性磷酸酶包括在绝大多数细胞的溶酶体中表达的溶酶体酸性磷酸酶、前列腺(prostate gland)、脑、肝脏、脾脏和血小板中表达的酸性磷酸酶。抗氟离子酸性磷酸酶在前列腺中的表达水平非常高, 当前列腺发生癌变并出现转移时抗氟离子的前列腺特异性酸性磷酸酶(prostatic acid phosphatase)活性水平最高。当前列腺发生病变时会导致血液中抗氟离子酸性磷酸酶活性显著升高。同时, 血液中检测到抗氟离子酸性磷酸酶活性升高时, 通常是前列腺发生病变。因此, 血清或血浆中抗氟离子酸性磷酸酶活性水平的升高, 常被用作前列腺癌等前列腺病变的指标。溶酶体储存性疾病(lysosomal storage diseases)如 Gaucher' s disease 等, 也会导致血液中抗氟离子酸性磷酸酶活性水平一定程度的升高。

本试剂盒可以检测血浆、血清、尿液、细胞或组织样品的裂解或匀浆产物的上清液或纯化的酶样品等中的抗氟离子酸性磷酸酶活性。

Para-nitrophenyl phosphate (pNPP) 是一种常用的磷酸酶显色底物, 在酸性条件下, 可在酸性磷酸酶作用下生成 para-nitrophenol。para-nitrophenol (p-nitrophenol)在碱性条件下, 呈黄色产物, 可以在 400-415nm 检测吸光度。产物黄色越深, 说明酸性磷酸酶活性越高, 反之则酶活性越低。据此通过比色分析就可以计算出酸



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

性磷酸酶活性水平。在适量的氟离子存在的情况下进行酸性磷酸酶的活性检测，检测得到的酸性磷酸酶活性就是抗氟离子酸性磷酸酶活性。

包括标准品和空白对照，本试剂盒共可进行 120 个样品的检测。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R32778-120T	检测缓冲液	15ml
	显色底物	2 管
	氟离子溶液	1ml
	p-nitrophenol 溶液(10mM)	0.1ml
	反应终止液	20ml
—	说明书	1 份

保存条件:

-20℃ 保存，一年有效。

注意事项:

如果希望进行酶活性的绝对定量，进行酶反应时必须注意精确计时。此时推荐采用孵育 30 分钟等较长的时间，以减小操作过程中的时间误差。同时如果样品中酶活性较高，则可以预先适当稀释样品。

样品溶液中须避免出现各种酸性磷酸酶抑制剂。

一管显色底物配制后需当日使用完毕，因此请注意适当多准备一些样品一起检测，以避免试剂盒浪费。

氟离子溶液和 p-nitrophenol 溶液对人体有害，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。反应终止液有腐蚀性，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或腐蚀其他物品。

本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 试剂准备：将所有试剂取出，恢复至室温使用。

a. 显色底物溶液：取一管显色底物，溶解于 2.5ml 的检测缓冲液中，充分溶解和混匀，冰上放置。新鲜配制的显色底物溶液需在 6 小时内使用。



b. 标准品工作液: 取 10 μ l p-nitrophenol 溶液(10mM), 用检测缓冲液稀释至 0.2ml, 最终浓度为 0.5mM。

2. 样品准备:

a. 细胞或组织裂解液的准备: 采用适当细胞或组织裂解液裂解细胞或组织, 建议使用 Western 及 IP 细胞裂解液(无抑制剂)裂解相关样品。如果有必要需进行适当匀浆, 随后离心取上清, 用于抗氟离子酸性磷酸酶的检测。注意: 裂解液中不能含有磷酸酶抑制剂。样品可以-80 $^{\circ}$ C 冻存, 但需避免反复冻融。

b. 血浆、血清和尿液的准备: 血浆和血清按照常规方法制备后可以直接用于本试剂盒的测定, 但为了消除样品本身颜色的干扰, 需设置加了血浆或血清但不加底物的对照。尿液通常也可以直接用于测定。上述样品可以-80 $^{\circ}$ C 冻存, 但需避免反复冻融。

c. 样品的稀释: 如果样品中含有较高活性的抗氟离子酸性磷酸酯酶, 可以使用原有的裂解液或 PBS 等进行稀释, 也可以采用试剂盒中的检测缓冲液进行稀释。如果使用试剂盒中提供的检测缓冲液进行稀释, 需注意保留足够的检测缓冲液用于试剂盒的检测过程。

3. 参考下表使用 96 孔板设置空白对照孔、标准品孔和样品孔。标准品的用量分别为 4、8、16、24、32 和 40 微升, 样品通常可以直接加 40 微升。如果样品中的抗氟离子酸性磷酸酯酶活性过高, 可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。样品的检测最好能设置平行孔或三复孔。

	空白对照(Blank)	标准品(Standard)	样品(Sample)
检测缓冲液	40 μ l	(80-x) μ l	(40-y) μ l
显色底物	40 μ l	—	40 μ l
氟离子溶液	5 μ l	5 μ l	5 μ l
样品	—	—	y μ l
标准品工作液	—	x μ l	—

4. 用枪头轻轻吹打混匀, 也可借助摇床进行混匀。

5. 37 $^{\circ}$ C 孵育 5-10 分钟。(说明: 待测样品中抗氟离子酸性磷酸酶活性较低时, 可适当延长孵育时间至 30 分钟)

6. 每孔加入 160 μ l 反应终止液终止反应。此时, 标准品或有抗氟离子酸性磷酸酶活性的孔会呈现不同深浅的黄色。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

7. 在 405nm 测定吸光度。如果不能测定 405nm, 也可以在 400-415nm 范围内检测吸光度。如果不能立即测定, 可以在数小时内完成测定, 所显现的黄色在数小时内稳定。

8. 酸性磷酸酶活性单位的定义: 在 pH4.8, 37°C 条件下, 每分钟水解 para-nitrophenyl phosphate 显色底物产生 1 微摩尔 p-nitrophenol 所需的酸性磷酸酶的量定义为一个酶活力单位。

9. 根据酶活性定义, 计算出样品中的抗氟离子酸性磷酸酯酶活性。

