

Tartrate Resistant Acid Phosphatase Colorimetric Assay Kit

抗酒石酸酸性磷酸酶检测试剂盒(PNP 微板法)

产品编号	产品名称	规格
BL156B	抗酒石酸酸性磷酸酶检测试剂盒(PNP 微板法)	120T

产品简介:

存在于正常人肺泡巨噬细胞和白血病人脾脏的抗酒石酸酸性磷酸酶(Tartrate-resistant acid phosphatase, TRAP)均在细胞滤泡中,并不释放入血液,而血液中的 TRAP 绝大多数来源于破骨细胞,因此可以通过测量血液中的 TRAP 了解破骨细胞的功能状态,几乎被认为是机体破骨活性的唯一血液指标。TRAP 是一种糖基化的含金属蛋白酶,在破骨细胞(osteoclast)和破软骨细胞(chondroclast)中高表达,在活化的巨噬细胞和神经元中也有表达。

抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)检测试剂盒(PNP 微板法)(Tartrate Resistant Acid Phosphatase Colorimetric Assay Kit)检测原理是利用 p-nitrophenyl phosphate (pNPP)为一种常用的磷酸酶显色底物,在酸性条件下可在 ACP 的作用下生成 p-nitrophenol (p-NP);在碱性条件下 p-NP 呈黄色,黄色越深说明 ACP 活性越高,反之则酶活性越低,在 400~415nm 处有最大吸收;在适量的酒石酸存在的情况下进行 ACP 活性检测,得到的 ACP 活性就是 TRAP 的活性,根据 p-NP 的生成量即可计算出 TRAP 的活性水平,可用于检测细胞或组织的裂解液或匀浆液、血浆、血清、尿液等样品中内源性的 TRAP 活性。

产品组成:

试剂名称	规格	保存
稀释缓冲液	15ml	4°C
显色剂	2×粉末	-20°C
酒石酸溶液	1ml	4°C
标准品	100ul	-20°C
终止液	20ml	RT

使用方法(仅供参考):

一、样本准备:

1. 血浆、血清和尿液样品:

血浆、血清按照常规方法制备后可以直接用于该试剂盒的测定,尿液通常也可以直接用于测定, -20°C冻存,用于 TRAP 的检测。

2. 细胞或组织样品:

取恰当细胞或组织裂解液,如果有必要可用 PBS 或生理盐水进行适当匀浆,一般细胞数量在 10^6 以上,组织应在 100mg 以上, 3000~4000g 离心取上清, -20°C冻存,用于 TRAP 的检测。

3. 植物样品:

取适量的植物组织加入少量 PBS 或生理盐水,充分捣碎或研磨,静置 30min,用纱布或滤纸过滤, 4000g 离心 20min,留取上清液并测量体积, -20°C冻存,用于 TRAP 的检测。

4. 高活性样品:

如果样品中含有较高活性的 TRAP,可以使用稀释缓冲液、PBS 或生理盐水稀释后再行检

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



测。

二、配制显色工作液：

取出 1 支 pNPP，恢复至室温后溶解于 2.5ml 稀释缓冲液，混匀，冰上预冷备用，新配制的显色工作液应在 6h 内用完

三、配制系列标准品：

取出标准品(10mM)恢复至室温，按标准品(10mM)：稀释缓冲液=1：19 的比例混合，使浓度达到 0.5mM，-20℃冻存备用；按下表继续稀释：

加入物(μl)	1	2	3	4	5	6
标准品(0.5mM)	4	8	16	24	32	40
稀释缓冲液	36	32	24	16	8	0
标准品含量(μM/4μl)	0.002	0.004	0.008	0.012	0.016	0.02

四、TRAP 加样：

按照下表设置空白孔、标准孔、空白孔，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡；如果样品中的 TRAP 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。

加入物(μl)	空白孔	标准孔	测定孔
稀释缓冲液	4	-	-
系列标准品(1~6 号)	-	4	-
待测样品	-	-	4
显色工作液	40	40	40
酒石酸溶液	5	5	5

五、TRAP 测定：

混匀，37℃孵育 25~30min，每孔加入 160μl 终止液终止反应；以空白调零，酶标仪测定 405nm 处标准管、测定管的吸光度。

计算：

系列标准品(1~6 号)浓度 0.002、0.004、0.008、0.012、0.016、0.02μM 为横坐标，以对应的标准孔吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，根据测定孔的吸光度在标准曲线上查得待测样品 p-NP 的生成量。

酸性磷酸酶活性单位的定义：在 pH 值 4.8 37℃条件下，每分钟水解 pNPP 显色底物产生 1 μM p-NP 所需的酸性磷酸酶的量定义为一个酶活力单位，根据酶活性定义，计算出样品中的抗酒石酸酸性磷酸酶活性。

$$\text{TRAP 酶活性}(\mu\text{M}/\text{min}) = \text{待测样品 p-NP 生成量} / \text{孵育时间}$$

注意事项：

- 1、浸泡在抗原修复液(1×)中，最佳的加热时间需根据不同的样品和目的蛋白自行摸索。
- 2、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。
- 3、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。





有效期:

-20°C保存一年。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

电话: 400-600-4213

邮箱: techserv@labgic.com

