

抗酒石酸酸性磷酸酶 (TRAP) 检测试剂盒 (PNP微板法)

产品货号: BA1639

产品规格: 120T

产品简介:

酸酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)分布极广泛, 遍布各种组织, 主要存在于细胞的溶酶体内, 所以常作为溶酶体标志酶。溶酶体外的酸性磷酸酶存在于内质网和胞质内, 各种动物中的酸性磷酸酶各有不同, 酸性磷酸酶的适宜pH为4.5~5.5。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, 并不是释放入血液, 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。

尚宝生物 抗酒石酸酸性磷酸酶检测试剂盒 (Tartrate Resistant Acid Phosphatase Colorimetric Assay Kit)检测原理是利用Para-nitrophenyl phosphate(pNPP)为一种常用的磷酸酶显色底物, 在酸性条件下, 可在酸性磷酸酶的作用下生成p-nitrophenol。在碱性条件下p-nitrophenol呈黄色, 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, 通过分光光度比色法(酶标仪)测定400~415nm处吸光度, 据此通过比色分析就可以计算出酸性磷酸酶活性水平。在适量的酒石酸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的活性就是抗酒石酸酸性磷酸酶的活性。该试剂盒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抗酒石酸酸性磷酸酯酶活性。该试剂盒仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

产品名称	120T	保存条件
试剂(A): ACP Assay buffer	15ml	2-8℃
试剂(B): pNPP	2支	-20℃, 避光
试剂(C): Tartrate Solution	1ml	2-8℃
试剂(D): p-nitrophenol(10mM)	0.1ml	-20℃, 避光
试剂(E): Stopping Solution	20ml	室温

自备材料:

1. 96孔板
2. 水浴锅或恒温箱
3. 酶标仪

操作步骤 (仅供参考):

1. 配制检测工作液:
 - ①配制显色工作液: 取出1支pNPP, 恢复至室温后溶解于2.5ml ACP Assay buffer, 混匀, 冰上预冷备用。新配制的显色工作液应在6h内用完。
 - ②配制标准品工作液: 取出p-nitrophenol(10mM)恢复至室温后, 取10 μ l溶解于190 μ l ACP Assay buffer, 使浓度达到0.5mM。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

2. 准备样品:

- ①细胞或组织样品: 取恰当细胞或组织裂解液, 如果有必要需进行适当匀浆, 低速离心取上清, -20℃冻存, 用于抗酒石酸酸性磷酸酯酶的检测。
- ②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本试剂盒的测定, 尿液通常也可以直接用于测定, -20℃冻存, 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。
- ③高活性样品: 如果样品中含有较高活性的抗酒石酸酸性磷酸酶, 可以使用原有的裂解液或PBS等进行稀释, 也可以采用ACP Assay buffer稀释。

3. 加样: 按照下表设置96孔板空白对照、标准品、待测样品, 溶液应按照顺序依次加入, 并注意避免产生气泡。标准品的用量分别为4、8、16、24、32、40μl, 待测样品直接加40μl。如果样品中的抗酒石酸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。

	空白对照孔	标准品孔	待测样品孔
ACP Assay buffer	40μl	(40-x)μl	(40-y)μl
显色工作液	40μl	40μl	40μl
Tartrate Solution	5μl	5μl	5μl
待测样品	-	-	yμl
标准品工作液	-	xμl	-

4. 轻轻混匀, 37℃孵育25~30min。
5. 每孔加入160μl Stopping Solution终止反应。
6. 酶标仪检测410nm处吸光值, 如果无法检测410nm, 亦可检测400~415nm范围内吸光值, 一般应数小时内检测完毕。

计算:

酸性磷酸酶活性单位的定义: pH4.8 37℃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。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。

注意事项:

1. 待测样品中不能含有磷酸酶抑制剂, 同时需避免反复冻融。
2. 建议每次测定时都做标准曲线, 以使标准更准确, 另外标准品需避免反复冻融。
3. 如果没有酶标仪, 也可以使用普通的分光光度计测定, 但应考虑根据比色杯的最小检测体积, 尽量采用小体积的比色杯。
4. 所测样本的值高于标准曲线的上限, 应用ACP Assay buffer稀释样品后重新测定。
5. 一支显色工作液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。
6. p-nitrophenol溶液对人体有害, 反应终止液有腐蚀性, 请小心操作。
7. 如果希望进行酶活性的绝对定量, 进行酶反应时应精确计时, 此时推荐采用孵育30min或更长时间, 以减小操作过程中的时间误差。
8. 待测样品中抗酒石酸酸性磷酸酶活性较低时, 可适当延长孵育时间至30min。
9. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期: 12个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com