

抗酒石酸酸性磷酸酶（TRAP）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA2162

产品规格：100T/48S

产品简介：

抗酒石酸酸性磷酸酶（TRAP）是破骨细胞的特征性酶，TRAP参与骨基质中固体钙磷矿化底物的降解，其表达和分泌与破骨细胞功能密切相关。在酒石酸存在的情况下，抗酒石酸酸性磷酸酶的活性不被抑制，而其他的酸性磷酸酶的活性则会受到抑制。酸性条件下，抗酒石酸酸性磷酸酶催化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，说明抗酒石酸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℃
试剂一	液体4mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1支	2-8℃
试剂三	粉剂×2支	-20℃
试剂四	粉剂×1支	2-8℃
试剂五	液体0.3mL×1支	2-8℃
试剂六	液体1.2mL×1支	2-8℃
试剂七	液体1.2mL×1支	2-8℃
试剂八	液体15mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1ml×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入1.2mL试剂一，充分溶解，如果试剂溶解不充分，可将试剂加热至50℃促进溶解。未用完的试剂2-8℃保存可以保存8周。
2. 试剂三：临用前加入1mL蒸馏水，充分溶解，未用完的试剂-20℃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。
3. 试剂四：临用前加入5.5mL蒸馏水溶解，未用完的试剂2-8℃保存可以保存4周。
4. 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。
5. 标准品：5μmol/mL酚标准液。临用前取100μL的5μmol/mL酚标准液于EP管中，加入300μL蒸馏水充分溶解，配制成1.25μmol/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、水浴锅/恒温培养箱、分析天平、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℃离心 10min，取上清，置冰上待测。



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. 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 96 孔板或者 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。

$$\text{TRAP 活性 (U/mg prot)} = (\Delta A_{\text{测定}} \times C_{\text{标准}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{样}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T \times 10^3 \times F = 20.83 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times F$$

(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。

$$\text{TRAP 活性 (U/g 质量)} = (\Delta A_{\text{测定}} \times C_{\text{标准}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{样}} \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T \times 10^3 \times F = 20.83 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F$$

(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。

$$\text{TRAP 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = (\Delta A_{\text{测定}} \times C_{\text{标准}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{样}} \div (N \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T \times 10^3 \times F = 20.83 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div N \times F$$

(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。

$$\text{TRAP 活性 (U/mL)} = (\Delta A_{\text{测定}} \times C_{\text{标准}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T \times 10^3 \times F = 20.83 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F$$

$C_{\text{标准}}$: 酚标准液, 1.25 $\mu\text{mol/mL}$ ； $V_{\text{样}}$: 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, 60min； C_{pr} : 蛋白质浓度, mg/mL； W : 样本质量, g；500: 细胞或细菌数目, 500 万； 10^3 : 单位换算系数, 1 $\mu\text{mol/mL} = 10^3 \text{nmol/mL}$ ； 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； $\Delta A_{\text{测定}}$ 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

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