

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：GBQ264

产品规格：96T(40 samples)

检测仪器：酶标仪(400-415 nm)

Elabscience®抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)

比色法测试盒

Tartrate Resistant Acid Phosphatase (TRAP)

Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清血浆、尿液、动物组织和细胞样本中的抗酒石酸酸性磷酸酶（TRAP）的活力。

检测原理

显色底物在酸性条件下，可在酸性磷酸酶作用下生成对硝基苯酚，可以在 405 nm 检测吸光度。通过检测该产物含量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活性就是抗酒石酸酸性磷酸酶活性。

本试剂盒检测组织和细胞样本时,需测定总蛋白浓度,推荐使用 BCA 法。(货号：GBQ162)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	24 mL×1 瓶	-20℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	粉剂×2 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	酒石酸溶液 (Tartaric Acid Solution)	1.4 mL×2 支	-20℃ 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	10 mmol/L 标准品溶液 (10 mmol/L Standard Solution)	1 mL×1 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	显色剂 (Chromogenic Agent)	15 mL×1 瓶	-20℃ 保存 6 个月
	酶标板	96 孔×1 块	无要求
	覆膜	2 张	
	样本位置标记表	1 张	

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(400-415 nm，最佳检测波长 405 nm)，恒温箱(37℃)

试剂：生理盐水(0.9% NaCl)

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 试剂二工作液的配制：

取一支试剂二用0.5 mL双蒸水溶解，置于冰上待用，未用完部分-20℃避光保存2天。

③ 反应工作液的配制：

按照试剂一：试剂二工作液=17: 1的体积比混匀，置于冰上避光待用，6 h 内使用有效。

④ 1 mmol/L标准品溶液的配制：

按照双蒸水：试剂四=9: 1 的体积比混匀，现配现用，按需配制，避光待用，1 h 内使用有效。

⑤ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	0	0.2	0.3	0.4	0.6	0.8	0.9	1.0
1 mmol/L 标准品溶液(μL)	0	40	60	80	120	160	180	200
试剂一(μL)	200	160	140	120	80	40	20	0

样本准备

① 样本处理

组织样本：按照组织样本质量(g)：生理盐水(0.9% NaCl)体积(mL)=1：9匀浆，离心后取上清待测，留取部分上清进行蛋白浓度测定。

细胞样本：按照每 1×10^6 个细胞加入200 μ L生理盐水(0.9%NaCl)的比例匀浆，离心后取上清待测，留取部分上清进行蛋白浓度测定。

血清（浆）和尿液等液体样本：直接测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.911-100 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
羊血浆	不稀释	猪血清	不稀释
人尿液	不稀释	大鼠血浆	1-2
10%小鼠肝组织	5-8	10%小鼠肺组织	2-5
10%小鼠肾组织	3-5	10%小鼠脑组织	3-5
HL-60 细胞	不稀释	293T 细胞	不稀释

注：稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)。

实验关键点

试剂二工作液和反应工作液见光易分解，使用过程注意避光。

操作步骤

- ① 标准孔：取 20 μ L 不同浓度的标准品溶液，分别加入相应的酶标孔中。
测定孔：取 20 μ L 待测样本加入相应的酶标孔中。
对照孔：取 20 μ L 待测样本加入相应的酶标孔中。
- ② 向①中标准孔和测定孔加入 120 μ L 反应工作液，各对照孔加入 120 μ L 试剂一。
- ③ 向②中各孔加入 20 μ L 试剂三。
- ④ 振板 3 s，37 $^{\circ}$ C 孵育 10 min；
- ⑤ 向④中加入 100 μ L 试剂五。
- ⑥ 振板 3s，室温静置 2 min。酶标仪 405 nm 波长下检测，测定各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	测定孔	对照孔
不同浓度的标准品溶液(μ L)	20	--	
待测样本(μ L)	--	20	20
反应工作液(μ L)	120	120	--
试剂一(μ L)	--	--	120
试剂三(μ L)	20	20	20
振板 3 s，37 $^{\circ}$ C 孵育 10 min			
试剂五(μ L)	100	100	100
振板 3 s，室温静置 2 min。酶标仪 405 nm 波长下检测，测定各孔 OD 值			

本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法。(货号：GBQ162)。

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

组织和细胞样本中抗酒石酸酸性磷酸酶 TRAP 活力计算公式：

定义：37°C 条件下，每克组织或细胞蛋白每分钟催化底物生成 1 μmol 对硝基苯酚所需要的 TRAP 酶量为一个活力单位。

$$\text{TRAP 活力} \frac{(\text{U/gprot})}{=} (\Delta A_{405} - b) \div a \div T \times 1000 \div C_{\text{pr}} \times f$$

血清(浆)和尿液样本中抗酒石酸酸性磷酸酶 TRAP 活力计算公式：

定义：37°C 条件下，每升血清(浆)或尿液每分钟催化底物生成 1 μmol 对硝基苯酚所需要的 TRAP 酶量为一个活力单位。

$$\text{TRAP 活力} \frac{(\text{U/L})}{=} (\Delta A_{405} - b) \div a \div T \times 1000 \times f$$

注解：

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA_{405} : 样本绝对 OD 值(样本测定 OD 值-样本对照 OD 值)

T: 酶促反应时间, 10 min

C_{pr} : 样本蛋白浓度, gprot/L

1000: 单位换算, 1 mmol/L=1000 $\mu\text{mol/L}$

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

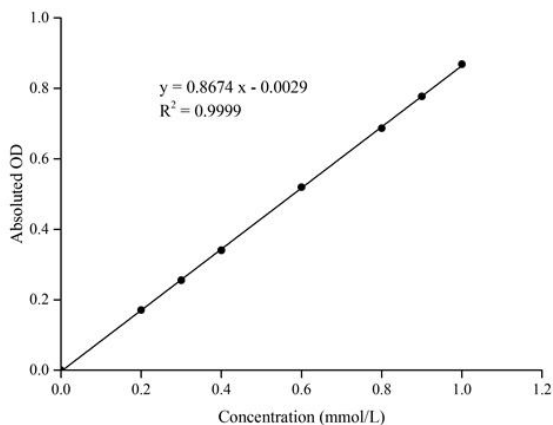
检测范围	0.911-100 U/L	批间差	2.4-3.2 %
灵敏度	0.911 U/L	批内差	1.6-2.5 %
稀释回收率	100-102 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量20 μL , 按照操作步骤进行实验, OD值如下表所示:

标准品浓度 (mmol/L)	0	0.2	0.3	0.4	0.6	0.8	0.9	1
OD 值	0.079	0.25	0.332	0.417	0.601	0.767	0.852	0.953
	0.078	0.249	0.336	0.421	0.595	0.764	0.86	0.941
平均 OD 值	0.078	0.249	0.334	0.419	0.598	0.765	0.856	0.947
绝对 OD 值	0	0.171	0.256	0.340	0.519	0.687	0.777	0.868

② 绘制标曲(如下图):



附录2 实例分析

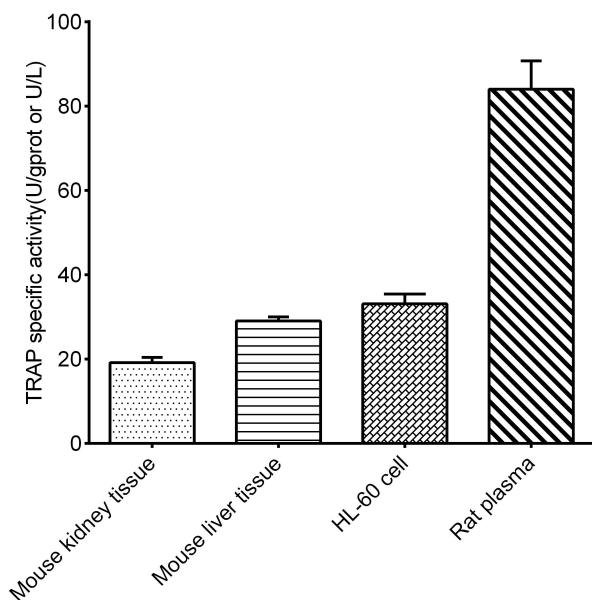
例如检测小鼠肝组织(数据仅供参考):

制备的10%小鼠肝组织上清液用生理盐水(0.9% NaCl)稀释5倍,取稀释后的样本20 μL ,按操作表操作,结果如下:

标准曲线: $y = 0.8674x - 0.003$, 样本对照OD值为0.108, 样本测定OD值为0.334, $\Delta A_{405} = \text{测定OD值} - \text{对照OD值} = 0.334 - 0.108 = 0.226$, 10%小鼠肝组织蛋白浓度为6.77 gprot/L, 计算结果为:

$$\text{TRAP 活力 (U/gprot)} = (0.226 + 0.003) \div 0.8674 \div 10 \times 1000 \div 6.77 \times 5 = 19.5 \text{ U/gprot}$$

按说明书操作,测定小鼠肾组织(10%组织蛋白浓度为6.77 gprot/L, 稀释5倍, 加样量20 μL)、小鼠肝组织(10%组织蛋白浓度为11.45 gprot/L, 稀释5倍, 加样量20 μL)、HL-60细胞(1×10^6 个细胞的蛋白浓度为1.22 gprot/L, 加样量20 μL)、大鼠血浆(稀释2倍, 加样量为20 μL)中的TRAP酶活(如下图):



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

