



碧云天网站



微信公众号

碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology

订货热线: 400-168-3301或800-8283301

订货e-mail: order@beyotime.com

技术咨询: info@beyotime.com

网址: http://www.beyotime.com

抗酒石酸酸性磷酸酶检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装
P0332	抗酒石酸酸性磷酸酶检测试剂盒	120次

产品简介:

- 碧云天生产的抗酒石酸酸性磷酸酶检测试剂盒(Tartrate 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酒石酸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。
- 抗酒石酸酸性磷酸酶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在细胞信号转导、细胞增殖和分化等方面起重要作用, 也和活性氧产生和铁离子转运等有关。抗酒石酸酸性磷酸酶可以被破骨细胞释放到血液中, 几乎被认为是机体破骨活性的唯一血液指标。
- 在一些疾病状态下, 如白血病性网状内皮组织增生症(leukaemic reticuloendotheliosis)、戈谢病(Gaucher's disease)、艾滋病导致的脑病(HIV-induced encephalopathy)、破骨细胞瘤(osteoclastoma)、骨质疏松(osteoporosis)和代谢性骨疾病(metabolic bone disease)有关。TRAP敲除小鼠有轻微的骨骼石化症, TRAP转基因小鼠有轻微的骨质疏松。
- 本试剂盒可以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、尿液或纯化的酶样品等中的抗酒石酸酸性磷酸酶活性。
- 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。
- 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
P0332-1	检测缓冲液	15ml
P0332-2	显色底物	2管
P0332-3	酒石酸溶液	1ml
P0332-4	<i>p</i> -nitrophenol溶液(10mM)	0.1ml
P0332-5	反应终止液	20ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 一年有效。显色底物和*p*-nitrophenol溶液需避光保存。

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。
- *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，建议使用碧云天的 P0013J 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，用于抗酒石酸酸性磷酸酶的检测。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酒石酸酸性磷酸酯酶，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
酒石酸溶液	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：待测样品中酒石酸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，标准品或有酒石酸酸性磷酸酶活性的孔会呈现不同深浅的黄色。
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 $^{\circ}$ 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，计算出样品中的抗酒石酸酸性磷酸酯酶活性。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
P0013J	Western及IP细胞裂解液(无抑制剂)	100ml
P0321	碱性磷酸酶检测试剂盒	100次
P0326	酸性磷酸酶检测试剂盒	120次
P0329	胎盘碱性磷酸酶检测试剂盒	100次
P0332	抗酒石酸酸性磷酸酶检测试剂盒	120次
P0335	抗氟离子酸性磷酸酶检测试剂盒	120次

使用本产品的文献：

- Jiang Y, Gou H, Wang S, Zhu J, Tian S, Yu L. Effect of Pulsed Electromagnetic Field on Bone Formation and Lipid Metabolism of Glucocorticoid-Induced Osteoporosis Rats through Canonical Wnt Signaling Pathway. Evid Based Complement Alternat Med. 2016;2016:4927035.
- Zhu L, Kang H, Guo CA, Fan WS, Wang YM, Deng LF, Yan ZQ. Rifampin suppresses osteoclastogenesis and titanium particle-induced osteolysis via modulating RANKL signaling pathways. Biochem Biophys Res Commun. 2017 Feb 26;484(1):64-70.

Version 2017.09.14