

大鼠抗酒石酸酸性磷酸酶5b定量测定试剂盒（酶联免疫法）

货号：SB-TR201A

【产品名称】

通用名称：大鼠抗酒石酸酸性磷酸酶 5b 定量测定试剂盒（酶联免疫法）

英文名称：Rat TRACP 5b Assay Kit (ELISA)

【包装规格】

规格：96 人份/ 盒

【预期用途】

用于定量测定大鼠血样中来源于破骨细胞的抗酒石酸酸性磷酸酶5b (TRAP5b)。

RatTRAP™ test只供科研使用。

【简介】

TRAP是破骨细胞骨吸收中表达并被释放进入血循环。因此，血清TRAP被认为是有效测定骨吸收速率的潜在标记物。然而，一些问题阻止了特异性TRAP分析的发展，包括血清中一些其它酸性磷酸酶，两种TRACP的异构重组产物——5a和5b，活跃或不活跃的TRAP分子及循环中一些碎片的干扰。

RatTRAP™分析方法是一个特异性检测大鼠破骨细胞分泌到循环中的TRAP 5b。并且，RatTRAP™只检测刚进入循环之内有活性的TRAP分子。该方法不会检测到在循环中没有活性的TRAP分子或碎片。因此，RatTRAP™分析方法能准确评估在样本采集时的骨吸收速率的数量。

【应用】

RatTRAP™分析能用于监测睾丸切除术和卵巢切除术后大鼠模型的骨吸收速率的改变。然而，该分析方法的使用存在着一些限制。我们推荐在手术操作前提取血清样本(日子0, 基准样本, 非常重要), 在手术操作后的1,2,4,7 和 14 天提取血清样本。在每个时间点都必须包括一个假设群体作为正常水平组。我们的结果出示血清TRAP 5b水平在睾丸切除术和卵巢切除术之后的几天内快速上升, 然后在手术后2个星期又回重到正常的水平。在那个时间点之后, TRAP 5b水平不再高于正常值。

【检测原理】

RatTRAP™使用一个高特异性的单克隆抗体是以重组巴氏病毒激发的RatTRAP作为抗原产生的。在测试中，抗体在包被有抗鼠IgG的单克隆抗体微量孔中孵育。洗涤之后，标准品，质控品和血清样本在微量孔孵育，并且测定TRAP 5b活性是在TRAP 5a失活而TRAP 5b高活性时的PH下，利用发光底物酶显色。反应被终止，反应混合物的吸光度在微量板读数仪上读取，颜色的亮度与样本中TRACP 5b的活性和数量成正比。

【主要组成成份】

1. **CAL 1-4** – 定标 (REF SB-TR102 01A - SB-TR102 01D) :

干粉Tris-缓冲液盐包含重组RatTRAP和蛋白有0.09%的叠氮化钠。在瓶子的标签上已有打印好的每瓶准确的定标值，每瓶0.5 mL，每盒4瓶。

2. **Ab** – 抗-鼠TRAP 抗体 (REF SB-TR102 02):

干粉Tris-缓冲液盐包含抗-鼠TRAP抗体，蛋白，稳定剂和0.05%叠氮化钠。每瓶10 mL。

3. **MICROPLAT** – 抗体包被板 (REF SB-TR102 02W) :

微量板被抗鼠IgG单克隆抗体连接到聚苯乙烯微量孔的内部表面，8X12板条孔带干燥剂。

4. **CTRL** – 质控 (REF SB-TR102 05) :

干粉Tris-缓冲液盐包含重组RatTRAP和蛋白有0.09%的叠氮化钠。在瓶子的标签上已有打印好的每瓶准确的定标值，每瓶0.5 mL。

5. **NaOH** – 终止液 (REF SB-TR000 06):

0.32M氢氧化钠，每瓶6 mL。

6. **RELEASREAG** – 释放剂 (REF SB-TR102 07):

从结合蛋白中分离TRAP特有的试剂。每瓶6 mL。

7. **SUBS pNPP** – 底物块 (REF SB-TR000 08):

pNPP 2片。

8. **SUBSBUF** – 底物缓冲液 (**REF** SB-TR000 08B):

醋酸钠缓冲液, 每瓶10 mL。

9. **WASHBUF 25x** – 浓缩冲洗缓冲液 (**REF** SB-TR000 09):

Tris-缓冲液包含吐温20, 每瓶40 mL。

10. 塑料胶板纸

【储存条件及有效期】

保存正确可稳定至有效期。所有试剂在2-8°C下保存。

【样本要求】

使用血清样本。样本在收集后马上进行离心分离。长期保存, 需保存在-80°C。避免反复冻溶样本。

【检验方法】

1. 自备试剂和材料

1.1 0.9% NaCl。

1.2 精确可调整的加样器 20 μ L, 25 μ L, 50 μ L, 100 μ L, 500 μ L, 5 mL。

1.3 精确可调的多道加样器 25 μ L, 50 μ L and 100 μ L。

1.4 全自动洗板机 (可选配)。

1.5 微量板读数仪和数据处理系统。

2. 试剂准备。

2.1 定标 **CAL 和质控 **CTRL**** : 定标 **CAL** 和质控 **CTRL** 提供的是干粉形式。用 0.5ml 的蒸馏水或者去离子复溶, 将盖子重新盖上在室温下静置 10-15 分钟, 反复颠倒几次确保复溶完全。

如果定标和质控不止一次使用, 要将他们冰冻保存 (建议超过一个星期保存要放在-70°C下保存)

2.2 抗鼠 TRAP 抗体 : 抗鼠 TRAP 抗体 **Ab** 提供的是干粉形式。用 10.5mL 的蒸馏水或去离子水重溶, 将盖子重新盖上在室温下静置 15 分钟, 反复颠倒几次确保复溶完全。

2.3 底物溶液 : 在使用之前准备。二片底物 **SUBS pNPP** 用 10ml 底物缓冲液溶解 (一片用半瓶 5ml 溶解)。如果底物溶液如果要多次使用, 要避光冰冻保存。

2.4 洗液缓冲液 : 每瓶洗液浓缩缓冲液 **WASHBUF 25x** 加入到 960ml 的蒸馏水或去离子水溶解并混匀。

其它试剂可直接使用。所有试剂在使用之前静置到室温。试剂在使用前反复颠倒数次以混匀。

3.A. 操作过程

将所有的试剂恢复到室温。

将所需的微量板条装到板条架上。推荐双份检测。将剩下的板条放回原装口袋中并重新封好。

注意! 确保在包装内的板条在密封保存期间是否干燥。

1. 加**100 μ L**的抗-RatTRAP抗体**Ab**到入到已有抗体包被的微量板孔**MICROPLAT**中。

2. 在室温(20-24°C)下孵育60 分钟并振荡(大约950rpm)。

3. 用冲洗液清洗所有微量孔:

a) 全自动洗板机: 设定洗板机每个孔致少300 μ L的冲洗量, 四次加满和吸干。

b) 手工冲洗: 轻轻的颠倒板架使孔内的液体倒出, 加入250 μ L的冲洗缓冲液到所有的孔中, 倒出并重复三次。在进行下一步操作时, 将微量板颠倒在滤纸上转打, 以确保吸干孔内多余的冲洗液。

4. 加**100 μ L**的定标**CAL**或质控**CTRL**到相应的抗体包被的孔中**MICROPLAT**中, 双份检测。0.9%的NaCl作为空白对照。

5. 加**75 μ L**的0.9% NaCl和**25 μ L** 样本到相应的有抗体包被的微量孔**MICROPLAT**中, 双份检测。

6. 使用多通道的加样枪, 加**50 μ L**的释放剂**RELEASREAG**到所有孔中。

7. 在室温下(20-24°C)孵育60分钟并振荡(大约 950rpm)。

8. 重复第三个冲洗步骤。

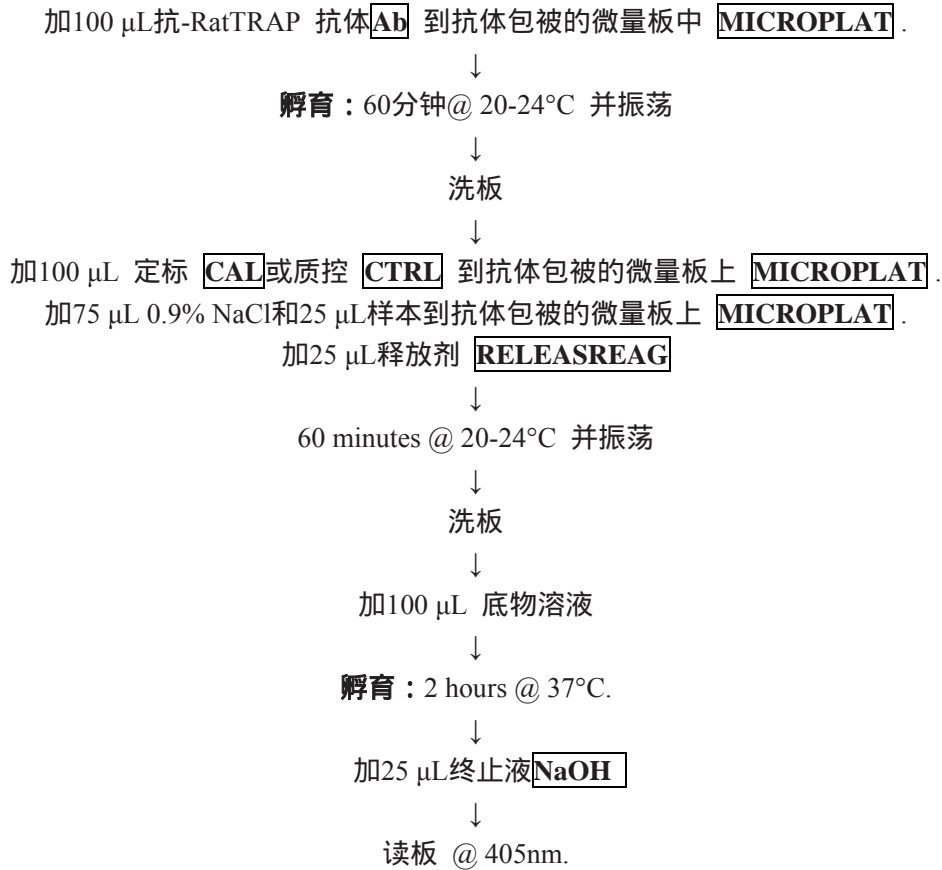
9. 用多通道加样枪加入**100 μ L**的新鲜配置的底物溶液到所有的孔中。

10. 用塑料胶纸板将板条盖上。在37°C下孵育60分钟。

11. 用多通道加样枪加**25 μ L**的终止液**NaOH** 到所有的孔中, 并确保与孔内溶液混匀。

12. 加入终止液后的30分钟内, 使用微孔板读数仪在405 nm 下测量所有孔的吸光度。

操作简介



3.B. 质量控制

正规的质控样本要求使用几种水平的分析物，以确保每天的结果在可接受的范围内。提供一盒试剂足够的试剂。质控应作为未知物进行检测。质量控制图应按照测试的结果进行绘画。

3.C. 结果计算

绘制每个定标的吸光度均值在纵坐标与浓度值在横坐标的对数相关图。从定标曲线图中读出质控与未知样本的U/L结果。样本的结果乘以稀释倍数。

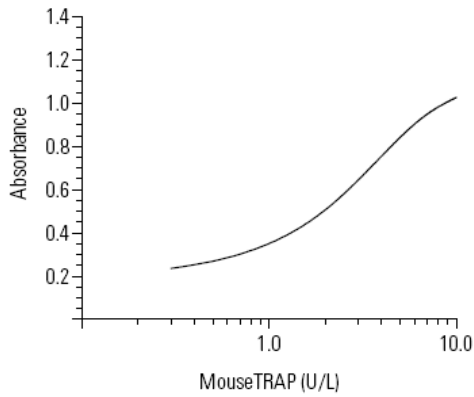
要得到每个样本的RatTRAP结果，从曲线上得到的结果乘以稀释倍数(1:4)。如果样本量为20 μ L和80 μ L和0.9% NaCl，那么稀释倍数应为5。

样本数据分析

这些数据仅用于作为例子介绍，不能用于任何样本结果的计算。每个标准的准确浓度已打印在瓶子的标签上。

孔	描绘	吸光度	平均吸光度	平均吸光度-空白	结果U/L
A1, A2	Blank	0.190 0.189	0.190	-	
A3, A4	Calibrator 1 0.5 U/L	0.326 0.327	0.326	0.137	
A5, A6	Calibrator 2 1.5 U/L	0.602 0.606	0.604	0.414	
A7, A8	Calibrator 3 3.0 U/L	0.928 0.935	0.931	0.742	
A9, A10	Calibrator 4 9.0 U/L	1.515 1.572	1.543	1.354	
A11, A12	Sample	0.703 0.692	0.697	0.508	1.9

典型的定标曲线：



【产品性能指标】

A. 灵敏度

灵敏度是0.1 U/L。

B. 精密度

	Sample	Number of replicates	Mean value U/L	CV%
分析的批内变异	1	10	1.19	5.8
	2	10	2.42	3.5
	3	10	2.72	4.1
	4	10	6.15	5.2
	5	10	10.32	3.9
分析的批间变异	1	8	1.24	5.2
	2	8	2.42	3.2
	3	8	2.70	3.0
	4	8	5.99	3.9

【注意事项】

警告和预防

- RatTRAP™试剂盒的分析方法仅用于**体外诊断**使用，不能在人类或其它动物体内使用。该产品必须严格按照试剂盒内附的说明书内所述操作一致。
- 试剂应避免阳光直射。
- 如果不遵从使用说明的用法产生废物而导致出现任何的损失或损害(除法令所需要)，否则IDS公司将不负任何负责。

注意：试剂包含有动物成份物质。处理试剂时应将试剂作为有传染性的物质处理。

适当的预防和好的实验室操作习惯必须在试剂盒的保存，使用和处理时使用。处理试剂时应按当地的规定程序处理。

叠氮化钠

试剂盒内的一些试剂内包含作为防腐剂的叠氮化钠，它可与铝、铜或者黄铜铝制品形成高爆炸性的金属叠氮物。在处理时，应用大量的水冲液以防止生成金属的叠氮物。

0.32M氢氧化钠

终止液[NaOH]包含0.32M的氢氧化钠；

R36/38 刺激眼睛和皮肤；

S26 如果接触到眼睛，马上用大量的水冲洗并且寻求医生建议；

S37/39 穿戴适当的手套和眼睛/面部的防护罩

【参考文献】

1. Halleen JM, Alatalo SL, Suominen H, Cheng S, Janckila AJ, Väänänen HK (2000). Tartrate-Resistant Acid Phosphatase 5b:A Novel Serum Marker of Bone Resorption. *J. Bone Miner. Res.* 15(7), 1337-1345 .

2. Marshall K, Nash K, Haussman G, Cassady I, Hume D, de Jersey J, Hamilton S (1997). Recombinant human and mouse purple acid phosphatases: expression and characterization. *Arch Biochem Biophys* 15:230-236.

【生产企业】

生产者名称：英国 Immunodiagnostic Systems Limited(IDS Ltd)

生产者/生产场所地址：10 Didcot Way,Boldon Business Park,Boldon,Tyne&Wear,NE35 9PD,UK

联系方式：+44 (0) 191 519 0660

传真：+44 (0) 191 519 0760

网址：www.idsltd.com

售后服务机构：北京荣志海达生物科技有限公司

地址：北京市海淀区永定路 88 号长银大厦 12 层 B12 室

电话：+86 10 58895646 +86 20 32293178

传真：+86 10 58895611 +86 20 32293177

电子邮箱：info@rz-biotech.com

网址：www.rz-biotech.com

【说明书批准及修改日期】

仅供参考，请以原版英文说明书为准！