

抗酒石酸酸性磷酸酶染色试剂盒

货号：FB31931
规格：4×10mL/4×20mL
保存：-20℃，避光保存，有效期 3 个月。

产品组成：

名称		4×10mL	4×20mL	保存
试剂(A): TRAP 固定液		50mL	100mL	2-8℃, 避光
试剂(B): TRAP 孵育液	B1: AS-BI 染色液	1mL	2×1mL	-20℃, 避光
	B2: GBC 染色液	0.1mL	0.2mL	-20℃, 避光
	B3: TRAP 缓冲液	9mL	18mL	室温, 避光
临用前, 按 B1:B2:B3=10:1:90 混合, 即为 TRAP 孵育液, 即配即用。				
试剂(C): 苏木素复染液		10mL	20mL	2-8℃, 避光
试剂(D): 甲基绿复染液		10mL	20mL	室温, 避光
试剂 C、D 均为复染液, 染色过程中择一使用即可, 不建议重复染色。				

产品介绍：

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-resistnt 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。

抗酒石酸酸性磷酸酶染色试剂盒显色原理与酸性磷酸酶染色基本相同, 在常规染色基础上引入了抗酒石酸盐进行酶亚型筛选, 细胞或组织切片上仅抗酒石酸酸性磷酸酶活性位点着色, 常规酸性磷酸酶位点不着色。该染色液可用于新鲜血涂片、细胞涂片, 亦可用于冰冻切片、石蜡切片。

自备材料：

蒸馏水、恒温箱、载玻片、光学显微镜

操作步骤：(仅供参考)

(一) 样本处理：

- 1、 细胞涂片：取新鲜全血或骨髓制备涂片, 推玻片于载玻片保持 30 度, 置于血液或细胞滴液的正前方, 稍往后移与血液或细胞滴液接触使后者沿推片下缘散开, 再匀速沿载玻片平面平稳向前滑动至均匀铺开为止, 自然晾干。
- 2、 贴壁培养细胞、细胞爬片：吸去培养基, 1×PBS 清洗 3-4 次, 沥去多余水分。取出细胞爬片。
- 3、 冰冻切片：从冰箱取出放置恢复室温, 浸入蒸馏水清洗 1-2min, 沥去多余水分。
- 4、 石蜡切片：石蜡切片脱蜡 5-10min, 重复一次。无水乙醇 5min, 90%乙醇和 70%乙醇各 2min, 蒸馏水浸洗 2min, 沥去多余水分。

(二) 染色孵育：

- 1、 使用 2-8℃预冷的 TRAP 固定液固定 30s-3min, 多数情况下 30-60s 即可。
- 2、 蒸馏水洗, 沥去多余水分(不宜过分干燥)。
- 3、 (切片处理)滴加 TRAP 孵育液覆盖切片, 置于湿盒内 37℃温箱孵育 45-60min, 蒸馏水洗。
- 4、 (贴壁细胞)滴加 TRAP 孵育液覆盖细胞, 置于 37℃温箱孵育 45-60min, 蒸馏水洗。
- 5、 复染：苏木素或甲基绿复染液染色 2-3min。如选用苏木素染色液复染, 染色后须自来水返蓝 10min 或 1×PBS 返蓝 3-5min。

(三) 封片观察：

- 1、 (切片处理)蒸馏水稍洗, 沥去多余水分, 滴加水性封片剂封片后镜检观察。
- 2、 (贴壁细胞)蒸馏水稍洗, 可带水或 1×PBS 镜下观察。

染色结果：

阳性细胞胞质	紫红色
细胞核	蓝色(苏木素)或绿色(甲基绿)

常见阳性对照：

- 1、肺驻留巨噬细胞通常呈 TRAP 阳性，其冰冻或石蜡切片可作为阳性对照切片。
- 2、多毛细胞白血病个体外周血中多毛细胞呈 TRAP 阳性。
- 3、经酶保护固定和脱钙的骨样本中，破骨细胞和破软骨细胞呈 TRAP 阳性。

注意事项：

- 1、该染色试剂盒为酶活原位染色试剂盒，常用于破骨细胞细胞诱导培养后细胞鉴定和组织中特定细胞定位，反应底物和染料易失效，收到产品后建议第一时间根据说明书描述温度妥善保存。
- 2、试剂 B2 为偶氮染料储备液，有颗粒状悬浮物属正常现象不影响染色。如担心，预混合 B1 和 B2 可使颗粒物完全溶解，但需在 2 小时内使用完毕。
- 3、酶活易受多种因素影响导致衰减或消失。建议样本新鲜取材，使用预冷固定液在 2-8℃冰箱固定，时间不宜超过 24h。包埋时推荐使用低熔点蜡（52-56℃），避免热失活。
- 4、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

