



抗酒石酸酸性磷酸酶（TRAP）染液说明书(精简版)

(货号: D023-1-1 Tartrate-Resistant Acid Phosphate stain)

免责声明: 测试前请仔细阅读说明书, 预试后再进行批量实验, 否则由此导致的后果用户自行承担!

【产品用途】

存在于正常人肺泡巨噬细胞等部位的 TRAP 和存在于细胞白血病人脾脏的 TRAP 均在细胞滤泡中, 并不释放入血液, 血液中 TRAP 绝大部分来源于破骨细胞。因而测量血液中 TRAP 可以了解破骨细胞的功能状态。本染液可用于石蜡切片、血液及骨髓涂片、细胞爬片、冰冻切片中的破骨细胞染色。

【检验原理】

在酸性的缓冲液中, 细胞内酸性磷酸酶催化底物水解, 其生成物进而与一种稳定的重氮盐偶联, 生成不溶性的偶氮染料沉淀, 当底物中存在酒石酸时, 该反应只出现在特异性细胞中。

【储存条件及有效期】

本试剂盒室温密封保存, 有效期 3 个月。所有应用液配置后要立即使用, 当天一次用完。

【所需仪器】

光学显微镜、染缸、玻片、滴管、秒表、记号笔等。

【试剂组成及配制】

○ 简明试剂组成表

试剂组成	试剂编号	包装规格
一、固定液		40mL×1 瓶
二、底物液	底物反应液(一)	甲液 ① A 粉×1 支
		② B 液 500μL×1 支
	乙液	③ C 粉×1 支
		④ D 液, 500μL×1 支
	底物反应液(二)	① E 粉×1 支
		② F 液, 500μL×1 支
	底物反应液(三)	G 液, 1mL×1 支
	底物反应液(四)	① H 粉×1 支
		② I 液, 500μL×1 支
三、复染液	苏木素	10mL×1 瓶
	甲基绿	10mL×1 瓶

○ 具体试剂配制及操作

一、固定液: 液体, 40mL×1 瓶

新鲜血涂片、细胞涂片或爬片、冰冻切片用固定液固定 5~10min (不能用酒精固定切片)。石蜡包埋的切片经脱蜡后不需要再固定。

二、底物反应液(一)、(二)、(三)、(四) 的组成及配制:

● 底物反应液(一) 组成及配制

组成: (1) A 粉×1 支 (2) B 液 500μL×1 支
(3) C 粉×1 支 (4) D 液 500μL×1 支

配制: 临用前将 B 液用移液器吸入 A 粉中充分溶解配成甲液, 备用再将 D 液移液器吸入 C 粉中充分溶解配成乙液, 备用最后将甲液与乙液混合成底物反应(一), 备用

● 底物反应液(二) 组成及配制:

组成: (1) E 粉×1 支 (2) F 液 500μL×1 支

配制: 临用前将底物反应液二的 F 液移液器吸入 E 粉中充分溶解配成底物反应液(二), 备用。

● 底物反应液(三): G 液 1mL×1 支, 备用

● 底物反应液(四) 组成及配制:

组成: (1) H 粉×1 支 (2) I 液 500μL×1 支

配制: 临用前将 I 液移液器吸入 H 粉中充分溶解配成底物反应液四, 备用。

底物孵育液的配制:

染色缸染色孵育法:

- ① 将底物反应液(一)、(二)、(三)、(四)的备用液混合并充分混匀;
- ② 先在染缸内加 30 mL 蒸馏水, 37°C 水浴 10 分钟;
- ③ 将底物反应液(一)、(二)、(三)、(四)依次加入已预温的蒸馏水中,
- ④ 然后将样本玻片固定, 水洗后还未完全干前, 立即将样本玻片放入已准备好的反应孵育液中, 避光孵育 60 分钟。

三: 复染液: 苏木素液, 10mL×1 瓶

甲基绿液, 10mL×1 瓶

孵育完后, 取出水洗 1 分钟, 在玻片尚未完全干之前进行复染。可用苏木素复染 1-2 分钟, 或用甲基绿复染 2~3 分钟(两者取其一), 取出水洗 10 秒, 水洗后快干前, 即可显微镜观察或用水溶性封固剂(本公司有售)封片后待检。

【样本染色前处理】

○ 血涂片及骨髓涂片

- 1、推片: 取全血或骨髓 3 微升左右置载玻片上, 将推玻片保持与载玻片 30 度角, 置于血滴正前方, 稍往后移与血滴接触, 血滴沿推片下缘散开, 再匀速沿载玻片平面平稳向前滑动, 至血液铺完血膜为止。满意效果为不太薄, 以免细胞太少, 也不要太厚, 以免太重叠。
- 2、凉干: 使涂片在空气中自然凉干, 再放入本试剂盒中的固定液内固定 2~3 分钟, 水洗约 30-60 秒。
- 3、一定注意水洗后不要太干时放入底物液中孵育 60 分钟(太干后染色效果欠佳)。

○ 石蜡切片

- 1、二甲苯中脱蜡 5-10 分钟。再换用新的二甲苯, 脱蜡 5-10 分钟。
- 2、无水乙醇浸泡 5 分钟。再 90%、70%乙醇浸泡各 2 分钟。
- 3、水合: 蒸馏水浸泡 2 分钟。

○ 冰冻切片

- 1、回温: 将预先制作好的并保存在-20°C 冰箱中的冰冻切片放置到切片架上回温^[注]约 5-10 分钟。

[注]: ① 可放到 37°C 孵箱中进行回温;

② 在 37°C 水浴箱中放置一个小盒子, 再将冰箱中取出的切片架放到小盒当中, 目的是让冰冻切片回温到 37°C

- 2、水合: 将回温好的切片, 水中浸泡 1~2 分钟。

【注意事项】

- 1、如样本为骨片的石蜡切片, 要注意不可用硝酸脱钙, 酸脱钙的方法对蛋白质(酶类)伤害较大, 从而影响特异性酶染色, 会使细胞中的特异性酶失活, 导致酶不能跟底物结合, 从而导致染色失败。建议使用抗酒石酸酸性磷酸酶专用的试剂进行脱钙, 本所有售, 欢迎来电咨询。
- 2、用底物孵育液进行孵育时要注意避光。

【染色结果】

阳性反应为鲜红色或深红色颗粒, 定位胞浆。