



抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)染色

货号: M071

原理:

TRAP 染色反应 抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)为破骨细胞的特异性标志酶, 应用偶氮偶联组化分析法酶活性部位显示红色反应。以萘酚二磷酸盐为底物, 偶氮副品红为显色剂, TRAP 在酒石酸钾钠存在条件下将萘酚 AS-BI 磷酸盐水解为萘酚 AS-BI, 与显色剂结合形成红色沉淀。

骨组织中的破骨细胞分泌酒石酸抵抗的酸性磷酸酶, 用此方法可以显示骨组织中破骨细胞的活性。本试剂盒适用于骨组织的石蜡切片、冰冻切片及培养的破骨细胞。

组织固定:

建议用 80%酒精固定; 福尔马林或者 4%多聚甲醛固定时间 16 小时到 4 天, 4℃下进行。

也可以用切片前不固定, 用 2.5%戊二醛二次固定 10 分钟。

试剂盒组成:

产品编号	产品名称	包装
M071A	醋酸盐缓冲液	50ml
M071B	亚硝酸盐溶液	20ml
M071C	副品红溶液	20ml
M071D	萘酚 AS-BI 磷酸盐	1ml
M071E	苏木素	50ml
M071F	酒石酸钾钠	5g

操作步骤

1. 石蜡切片 4~5 μ m,脱蜡至水洗; 细胞爬片或者冰冻切片用 80%酒精或戊二醛固定后蒸馏水水洗 3 次, 每次 3 分钟。
2. 配制六偶氮副品红溶液 (亚硝酸盐溶液和副品红溶液等比例混合, 即为六偶氮副品红, 现配现用)

3. 配制孵育液：取 1ml 六偶氮副品红加到 18ml 醋酸盐溶中，再加入 1ml 萘酚 AS-BI 磷酸盐溶液，再加酒石酸钾钠 282mg。调 pH 值 5.0，过滤备用；
4. 阴性对照孵育液：取 1ml 六偶氮副品红加到 18ml 醋酸盐溶中，再加酒石酸钾钠 282mg。调 pH 值 5.0，过滤备用
5. 切片入 37℃ 蒸馏水水洗 30 秒；
6. 入孵育液 37℃ 孵育 50-60 分钟；
7. 去离子水水洗 3 分钟；
8. 入苏木素复染 40 秒；
9. 自来水水洗 10 分钟返蓝；
10. 甘油明胶封片。

结果分析：

破骨细胞浆呈紫红色，细胞核呈蓝色。

体会与说明：

1. 骨组织切片易脱片，操作过程中水洗要轻；
2. 骨组织脱钙宜用柠檬酸脱钙或者 EDTA 脱钙，禁用强酸脱钙；
3. 切片以 3-4um 为宜，切片过厚就会有酶扩散现象；
4. 孵育液要新鲜配制，现用现配；pH 值对染色影响比较大，pH 值 5.0 为最佳；
5. 37℃ 孵育时要防止水分蒸发，染色液干涸。

