

TRAP染色试剂盒

目录号：ABC1068

产品简介

抗酒石酸酸性磷酸酶（tartrate resistant acid phosphatase, TRAP）是破骨细胞的标志性酶，特异性分布于破骨细胞中。TRAP染色试剂盒即是用于显示组织中的破骨细胞。其中基本原理在于，在含酒石酸的酸性条件下，抗酒石酸酸性磷酸酶TRAP能将萘酚AS-BI磷酸盐水解，产生的萘酚AS-BI与六偶氮副品红结合，形成非水溶性的酒红色物质沉积在酶活性原位，从而实现对抗酒石酸酸性磷酸酶的显色和定位。

本产品基本组成成分：反应缓冲液主要成分为醋酸缓冲液及酒石酸钾钠，pH约5.0；副品红溶液，含5%副品红；亚硝酸钠溶液主要成分为4%亚硝酸钠；AS-BI磷酸盐底物溶液，主要成分为20 mg/mL萘酚AS-BI磷酸盐。经本产品染色后，破骨细胞中的TRAP呈酒红色，定位于细胞浆。按照切片上每个组织点300 μ L用量，本试剂盒可以做50次以上TRAP染色。

储存与运输

冰袋（wet ice）运输；2-8 $^{\circ}$ C避光保存，其中AS-BI磷酸盐底物溶液-20 $^{\circ}$ C保存，有效期12个月。

使用方法

实验前准备

配制TRAP工作液：

(1) 取50 μ L副品红溶液（ABC1068-2）与50 μ L亚硝酸钠溶液（ABC1068-3）在洁净离心管中混匀，得到六偶氮副品红溶液；

(2) 向第1步的100 μ L六偶氮副品红溶液中加入100 μ L AS-BI磷酸盐底物溶液（ABC1068-4），吹吸数次充分；

(3) 吸取1.8 mL反应缓冲液（ABC1068-1）加入到第2步的混合液中充分混匀；

(4) 第3步的混合液经针式滤器过滤（0.45 μ m水系滤膜）即得到TRAP工作液。

注意：务必按照所属顺序配制工作液。每个组织点大约需要200-300 μ L工作液，根据使用量配制，现配现用，避免浪费。

石蜡切片操作步骤（供参考）

1. 石蜡切片脱蜡至水，纯水洗数分钟。
2. 将切片用组化笔化圈后放在（加有一定量的防止切片蒸干的纯水）湿盒中，用纯水37 $^{\circ}$ C孵育2 h。
3. 切片孵育完成后倾去纯水，滴加过滤好的TRAP工作液覆盖组织，置于37 $^{\circ}$ C避光反应20-30 min。
4. （可选，自备相关试剂）复染细胞核：倾去孵育液并水洗，以苏木素染液进行染核。
5. 脱水，透明，以中性树脂封片。

细胞爬片操作步骤（供参考）

1. 细胞固定：吸除细胞培养液，加入4%多聚甲醛（推荐ABC1119）固定15-30 min，蒸馏水洗3次。
2. 细胞破膜：以0.2% Triton X-100溶液覆盖细胞进行破膜处理20-30 min，蒸馏水轻洗3遍。
3. 孵育染色：将TRAP工作液加到细胞孔板内覆盖细胞，37 $^{\circ}$ C避光孵育15-20 min，蒸馏水洗3次。
4. （可选，自备相关试剂）细胞核复染：吸除孵育液并水洗，以苏木素染液进行染核。



TRAP染色试剂盒
目录号：ABC1068

5. 加入适量无水乙醇脱水，取出孔板中的盖玻片，吹风机吹干，倒扣在洁净的载玻片上以中性树脂胶封片。

注意事项

1. Goldner染液C及Goldner染液D的染色程度根据染色深浅控制，胶原部分不能太红，会影响Goldner染液D的着色。

2. Goldner染液E染色后需注意控制分化程度，避免分化不足或过度分化。

3. 操作时请穿实验服，并佩戴一次性手套。

本产品仅供科研用途，不用于临床诊断！

(产品包装升级中，以实物为准。)