

凯基抗酒石酸酸性磷酸酶染液试剂盒

KEYGEN tartrate-resistant acid phosphatase stain, TRAP stain

说明书修订日期: 2021.12.01

Cat number: KGA221

Store at 4°C for 3 months

For Research Use Only (科研专用)

一、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。

二、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	①A 粉×1 支
			②B 液 500 μL×1 支
		乙液	③C 粉×1 支
			④D 液, 500 μL×1 支
	底物反应液 (二)	①E 粉×1 支	
		②F 液, 500 μL×1 支	
	底物反应液 (三)	G 液, 1ml×1 支	
	底物反应液 (四)	①H 粉×1 支	
②I 液, 500 μL×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, 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 500 μL×1 支
(3) C 粉×1 支 (4) D 液 500 μL×1 支

配制: 临用前用移液器将 B 液吸入 A 粉中充分溶解配成甲液, 备用。再用移液器将 D 液吸入 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液（一），**现用现配**

底物反应液（二）组成及配制：

组成：（1）E 粉×1 支 （2） F 液 500 μ L×1 支

配制：临用前用移液器将 F 液吸入 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

底物反应液（四）组成及配制：

组成：（1）H 粉×1 支 （2） I 液 500 μ l×1 支

配制：临用前用移液器将 I 液吸入 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

染缸孵育液的准备：

- （1）将底物反应物（一），（二），（三），（四）的备用液混合并充分混匀，
- （2）先在染缸内加 30ml 蒸馏水，37℃水浴 10 分钟，
- （3）将底物反应物（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，立即放入已经准备好的反应孵育液中，避光孵育 60 分钟。

注：配置好的孵育液需现用现配，一次性用完，不可反复使用。

三、复染液：

苏木素液，10ml×1 瓶

甲基绿液，10ml×1 瓶

孵育完后，取出样本玻片水洗 1~2 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。

三、染色结果

阳性反应为鲜红色或深红色颗粒，定位胞浆中。

四、玻片保存

样本玻片如需长期保存，苏木素复染可用中性树脂胶封片，甲基绿复染可用水性的甘油明胶封片。

五、所需仪器设备

光学显微镜、染缸、玻片、滴管、秒表、记号笔等。

六、样本染色前准备

血涂片及骨髓涂片的样本前处理

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、晾干：使涂片在空气中自然晾干，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、水洗后注意在不要太干时放入底物孵育液中 37℃避光孵育 60 分钟（太干后染色效果欠佳）

石蜡切片的样本前处理

1、脱蜡：二甲苯中脱蜡 5~10 分钟，再换用新鲜的二甲苯，脱蜡 5~10 分钟。

2、下行入水：无水乙醇 5 分钟，再用 90%、70%乙醇、蒸馏水各 2 分钟。

特殊样本的前处理

例如骨切片作 TRACP 染色前的脱钙处理，不可用硝酸等进行脱钙，否则会破坏酶及蛋白类物质，从而影响染色效果，为保证染色质量，应该用专用脱钙剂进行脱钙，需先固定后脱钙。

冰冻切片的样本前处理

1、回温：将预先制作好的并保存在-20℃冰箱中的冰冻切片放置到切片架上回温约 5~10 分钟。

[注]：①可放到 37℃孵箱中进行回温。

②在 37℃水浴箱中放置一个小盒子，再将从冰箱中取出的切片放到小盒当中，目的是让冰冻切片回温到 37℃

2、水合：将回温好的切片，水中浸泡 1~2 分钟。

七、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、骨髓涂片、细胞爬片、以及冰冻切片中破骨细胞染色。

八、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。
- 2、用底物孵育液进行孵育时要注意避光。

九、储存条件及有效期

本试剂盒应置 2~8℃密封避光保存，有效期 3 个月。配置后要立即使用，一次用完。