

TECHNICAL DATA SHEET

货号: ZC-G10052 规格: 50T

TRAP 染色试剂盒

产品信息:

产品名称	产品编号	规格
TRAP 染色试剂盒	ZC-G10052	50T

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 ; 六偶 氮副品红溶 液,含六偶氮副品红; 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; 4°C避光保存, 其中 AS -BI 磷酸盐底物溶液 -20°C保存, 有效期 12 个月。

组成

Component Number	Component	ZC-G10052-50T
ZC-G10052-1	反应缓冲液	20 mL
ZC-G10052-2	六偶氮副品红溶液	1 mL
ZC-G10052-3	亚硝酸钠溶液	1 mL
ZC-G10052-4	AS -BI 磷酸盐底物溶液	1 mL
说明书		1 份

使用方法

实验前准备

配制 TRAP 工作液:

- (1) 取 50 μ L 六偶氮副品红溶液 (ZC-G10052-2) 与 50 μ L 亚硝酸钠溶液 (ZC-G10052-3) 在洁净离心管中混匀, 得到副品红溶液;
- (2) 向第 1 步的 100 μ L 副品红溶液中加入 100 μ L AS -BI 磷酸盐底物溶液 (ZC-G10052-4), 吹吸数次充分;
 - (3) 吸取 1.8 mL 反应缓冲液 (ZC-G10052-1) 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 μm 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℃ 解育 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℃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,以中性树胶封片。

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 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℃避光孵育 1-2 h,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。
- 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胶封片。