TRAP染色检测步奏

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，含六偶氮副品红及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 μL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℃避光保存，其中AS-BI磷酸盐底物溶液-20℃保存，有效期12个月。

**组成**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Component Number** | **Component** | **Bry-2030** |
| **Bry-2030-1** | 反应缓冲液 | 20ml |
| **Bry-2030-2** | 六偶氮副品红溶液 | 1ml |
| **Bry-2030-3** | 亚硝酸钠溶液 | 1ml |
| **Bry-2030-4** | AS-BI磷酸盐底物溶液 | 1ml |
|  |  |  |

**实验前准备**

配制TRAP工作液：

（1）取50 μL六偶氮副品红溶液（G1050-2）与50 μL亚硝酸钠溶液（G1050-3）在洁净离心管中混匀，得到副品红溶液；

（2）向第1步的100 μL副品红溶液中加入100 μL AS-BI磷酸盐底物溶液（G1050-4），吹吸数次充分；

（3）吸取1.8 mL反应缓冲液（G1050-1）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 μL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℃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℃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。

**结果显示：**

破骨细胞中的TRAP呈酒红色，定位于细胞浆

