

抗酒石酸酸性磷酸酶染色液

货号: AC11622

规格: 4×10mL/4×20mL

保存: -20℃, 避光保存, 有效期3个月

产品组成:

名称		4×10mL	4×20mL	保存
试剂(A): TRAP 固定液		50mL	100mL	2-8℃, 避光
试剂(B): TRAP 孵育液	B1: AS-BI 染色液	1mL	2×1mL	-20℃, 避光
	B2: GBC 染色液	0.1mL	0.2mL	-20℃, 避光
	B3: TRAP 缓冲液	9mL	18mL	室温, 避光
临用前, 按 B1:B2:B3=10:1:90 混合, 即为 TRAP 孵育液, 即配即用。				
试剂(C): 苏木素染色液		10mL	20mL	2-8℃, 避光
试剂(D): 甲基绿染色液		10mL	20mL	室温, 避光

产品介绍:

酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)分布极广泛, 遍布各种组织, 主要存在于细胞的溶酶体内, 所以常作为溶酶体标志酶。溶酶体外的酸性磷酸酶存在于内质网和胞质内。各种动物中的酸性磷酸酶各有不同, 酸性磷酸酶的适宜 pH 为 4.5-5.5。存在于正常人肺泡巨噬细胞和白血病人脾脏的抗酒石酸酸性磷酸酶 (Tartrate-resistant acid phosphatase, TRAP)均在细胞滤泡中, 并不是释放入血液。血液中的 TRAP 绝大多数来源于破骨细胞, 因此可以通过测量血液中的 TRAP 了解破骨细胞的功能状态。

抗酒石酸酸性磷酸酶染色液以萘酚 AS-BI 为底物, 在酸性 pH 下被酸性磷酸酶水解释放出磷酸和萘酚, 萘酚与重氮盐偶联生成有色产物, 定位于细胞质中, 若细胞内的 ACP 有抗酒石酸的活性, 则呈阳性反应。该染色液可用于新鲜血涂片、细胞涂片, 亦可用于冰冻切片、石蜡切片。

自备材料:

蒸馏水、恒温箱、载玻片、推玻片、光学显微镜

操作步骤: (仅供参考)

(一)血液、细胞涂片:

- 1、推片: 取新鲜血液或骨髓涂片置于载玻片上, 推玻片于载玻片保持 30 度, 置于血液或细胞滴液的正前方, 稍往后移不血液或细胞滴液接触使后者沿推片下缘散开, 再匀速沿载玻片平面平稳向前滑动至铺满血膜为止。
- 2、自然晾干, TRAP 固定液 4℃固定 30s-3min, 多数情况下 30-60s 即可。
- 3、水洗, 稍微晾干(不宜过分干燥)。
- 4、切片入 TRAP 孵育液, 置于 37℃温箱, 避光浸染 45-60min, 水洗。
- 5、复染: 苏木素染色液染色 5min 或甲基绿染色液染色 2-3min。
- 6、水洗、晾干、镜检。

(二)冰冻切片:

- 1、冰冻切片回温至 37℃, 水中浸泡 1-2min。
- 2、自然晾干, TRAP 固定液 4℃固定 1-3min。
- 3、水洗, 稍微晾干(不宜过分干燥)。
- 4、切片入 TRAP 孵育液, 置于 37℃温箱, 避光浸染 45-60min, 水洗。
- 5、复染: 苏木素染色液染色 5-8min 或甲基绿染色液染色 2-3min。
- 6、水洗、晾干、镜检。

(三)石蜡切片:

- 1、石蜡切片脱蜡 5-10min, 重复一次。
- 2、无水乙醇 5min, 90%乙醇和 70%乙醇各 2min。

- 3、水洗 2min。
- 4、自然晾干，TRAP 固定液 4℃固定 30s-3min，多数情况下 30-60s 即可。
- 5、水洗，稍微晾干(不宜过分干燥)。
- 6、切片入 TRAP 孵育液，置于 37℃温箱，浸染 45-60min，水洗。
- 7、复染：苏木素染色液染色 5-8min 或甲基绿染色液染色 2-3min。
- 8、水洗、晾干、镜检。

染色结果：

阳性颗粒	紫红色
细胞核	蓝色(苏木素)或绿色(甲基绿)

临床意义：

- 1、毛细胞白血病的毛细胞 ACP 染色呈强阳性或中度阳性，且不被酒石酸抑制，其他细胞均呈阴性或极弱阳性。
- 2、急性白血病幼单核细胞 ACP 染色呈阳性，原淋巴细胞呈弱阳性，原粒细胞对 ACP 反应不一。
- 3、T 淋巴细胞 ACP 染色呈阳性，颗粒粗大、分布密集。B 淋巴细胞呈阴性或颗粒细小的弱阳性。
- 4、戈谢细胞呈强阳性，尼曼-皮克细胞呈阴性或弱阳性。

注意事项：

- 1、TRAP 孵育液易失效，本法宜用皮肤穿刺血涂片，晾干后应及时染色
- 2、对冰冻切片染色时，应减少切片在室温暴露的时间。
- 3、样本需新鲜，取材后应立即处理，否则会影响酶的活性。
- 4、组织固定需在 4℃冰箱进行，时间不宜超过 24h，否则酶活性会减弱或消失。
- 5、组织在石蜡包埋时，温度不宜高于 56℃。应使用熔点为 52-54℃的石蜡进行浸蜡，浸蜡时间要短，否则酶活性会减弱或消失。
- 6、不纯的二甲苯会分解黑色沉淀，宜选用 AR 级以上的二甲苯。
- 7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。