

TRAP染色试剂盒

产品货号: R23701 产品规格: 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;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20mg/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300μL用量,本试剂盒可以做50次以上TRAP染色。

产品组成:

产品名称	50T	保存条件
反应缓冲液	20ml	2-8℃,避光
副品红溶液	1ml	2-8℃,避光
亚硝酸钠溶液	1ml	2-8℃,避光
AS-BI磷酸盐底物溶液	1ml	-20°C

使用方法:

实验前准备

配制TRAP工作液:

- (1) 取50µL副品红溶液与50µL亚硝酸钠溶液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100μL六偶氮副品红溶液中加入100μL AS-BI磷酸盐底物溶液, 吹吸数次充分;
- (3) 吸取1.8 mL反应缓冲液加入到第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 mm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200-300μL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20-30min。
- 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15-30min,蒸馏水洗3次。
- 细胞破膜:以0.2% Triton X-100溶液覆盖细胞进行破膜处理20-30min,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15-20min,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。

有效期: 12个月有效。

