石蜡切片抗酒石酸酸性磷酸酶染色（trap）实验报告

一、实验器材及试剂

1.实验器材

名称	厂家	型号
脱水机	俊杰电子有限公司	JJ-12J
包埋机	俊杰电子有限公司	JB-P5
病理切片机	上海徕卡仪器有限公司	RM2016
冻台	俊杰电子有限公司	JB-L5
组织摊片机	浙江省金华市科迪仪器设备有限公司	KD-P
烤箱	上海慧泰仪器制造有限公司	DHG-9140A
载玻片	陕西依科生物技术服务有限公司	YK116
盖玻片	江苏世泰实验器材有限公司	10212432c
正置显微镜	日本尼康	ci-s
扫描仪（白光）	日本滨松	NanoZoomer-SQ
扫描仪（白光、荧光）	3DHISTEC	PannoramicMIDI

2.主要实验试剂

试剂	厂家	货号
无水乙醇	国药集团化学试剂有限公司	10009218
二甲苯	国药集团化学试剂有限公司	10023428
苏木素染液	陕西依科生物技术服务有限公司	YK2219
抗酒石酸酸性磷酸酶试剂盒	陕西依科生物技术服务有限公司	YK2344
酸性乙醇分化液	陕西依科生物技术服务有限公司	YK2293
中性树胶	陕西依科生物技术服务有限公司	YK1557

二、TRAP 染色实验原理及步骤

实验原理 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-resistnt 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。

TRAP 染色实验步骤

1. **石蜡切片脱蜡至水：**依次将切片放入二甲苯Ⅰ8min-二甲苯Ⅱ8min-无水乙醇Ⅰ 6min-无水乙醇Ⅱ6min-95%酒精6min-85%酒精6min-75%酒精5min-流水冲洗；
2. 自然晾干， TRAP 固定液 2-8℃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，浸染 45-60min,水洗。
5. 复染：苏木素染色液染色 5-8min，分化液分化 3-5s 。
6. 水洗、脱水、透明、中性树胶封片。

三、染色结果判读：阳性颗粒呈紫红色，细胞核呈蓝色。