

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	上海徠卡仪器有限公司	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
无水乙醇	天津天力化学试剂有限公司 批号: 20220609
二甲苯	天津天力化学试剂有限公司 批号: 20221008
苏木素染液	陕西依科生物技术服务有限公司 YK2219 批号: YK0103150922
抗酒石酸酸性磷酸酶试剂盒	索莱宝 G1492
酸性乙醇分化液	陕西依科生物技术服务有限公司 YK2293 批号: YK0201181122
中性树胶	陕西依科生物技术服务有限公司 YK1557 批号: 20220715

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-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 I 8min-二甲苯 II 8min-无水乙醇 I 6min-无水乙醇 II 6min-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。**