

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300 μ L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 $^{\circ}$ C, 避光
副品红溶液	1ml	2-8 $^{\circ}$ C, 避光
亚硝酸钠溶液	1ml	2-8 $^{\circ}$ C, 避光
AS-BI磷酸盐底物溶液	1ml	-20 $^{\circ}$ C

使用方法:

实验前准备

配制TRAP工作液:

- (1) 取50 μ L副品红溶液与50 μ L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100 μ L六偶氮副品红溶液中加入100 μ L 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步的混合液经针式过滤器过滤 (0.45 μ m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 μ L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 $^{\circ}$ C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 $^{\circ}$ C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。
2. 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 $^{\circ}$ C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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com