**抗酒石酸酸性磷酸酶染色液说明书**

**产品简介：**

 酸性磷酸酶(acidphosphatase，ACP)分布极广泛，遍布各种组织，主要存在于细胞的溶酶体内，所以常作为溶酶体的标志酶。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、冰冻切片。

**产品组成：**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  编号名称 | RC204323×10ml | Storage |
| 试剂(A): TRAP 固定液 | 25ml  | 4℃ 避 光 |
| 试 剂 (B): TRAP 孵育液 | B1: AS-BI Buffer | 2×0.5ml | -20℃ 避 光 |
| B2: GBC 染色液 | 0.5ml | 4℃ 避 光 |
| B3: TRAP Buffer | 9ml | RT 避 光 |
| 临用前，按 B1:B2:B3=10:5:90 混合，即为 TRAP 孵育液，即配即用。 |
| 试剂(C): Lea 苏木素染色液 | 10ml | RT |
| 使用说明书 | 1 份 |

**自备材料：**

1、蒸馏水、恒温箱

2、载玻片、光学显微镜

**操作步骤：**

(一)血液、细胞涂片：
1、推片：取新鲜血液或骨髓涂片置于载坡片上，推玻片与载玻片保持 30°，置于血液或细胞滴液的正前方，稍往后移与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(不易过分干燥)。
4、切片入 TRAP 孵育液，置于 37℃温箱，避光浸染 45～60min，水洗。

5、复染：Lea 苏木素染色液染色 3~5min。
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(不易过分干燥)。

4、切片入TRAP 孵育液，置于37℃温箱，避光浸染 45～60min，水洗。

5、复染：Lea 苏木素染色液染色 5～8min。

6、水洗、晾干、镜检。

**染色结果：**

|  |  |
| --- | --- |
| 阳性颗粒 | 紫红色 |
| 细胞核 | 蓝色 |

**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 ACP 染色呈强阳性；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、GBC 染色液尽量 4℃保存，尽量避免-20℃保存，以避免潮解。

3、对冰冻切片染色时，应减少切片在室温暴露的时间。

4、样本需新鲜，取材后应立即处理，否则会影响酶的活性。

5、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。

6、组织宜使用冰冻切片，不宜用石蜡切片。

7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作

**有效期：** 6 个月有效。低温运输，保存方法参照产品组成说明。