

## じっけんレシピ

## 酸性ホスファターゼ染色

製品番号 : 387A

## 酸性ホスファターゼ染色の原理

ナフトールリン酸

↓ ← 酸性ホスファターゼ

ナフトールの遊離 + ファストガーネット GBC 塩

↓

不溶性のアゾ色素が沈着(赤褐色～茶褐色に観察される)

破骨細胞、ヘアリー細胞（毛様細胞； hairy cell）、Gaucher 細胞などの酸性ホスファターゼは酒石酸に耐性があるため（Tartrate-Resistant Acid Phosphatase； TRAP）、酒石酸を添加した系でも赤褐色から茶褐色に染まります。そのため、破骨細胞のマーカーとして TRAP 染色がよく用いられています。

## 染色方法

TRAP 染色キットとして製品番号 386A と 387A（Acid Phosphatase, Leukocyte Kit）が使用できます。

※本説明書は製品番号 387A 用です。

## 酸性ホスファターゼ染色キットの違い

製品番号	386A	387A
染色液	カプセル入り	溶液
固定液	アセトン	アセトン・ホルムアルデヒド

## 386A

染色液はカプセルから取り出した後、すぐに使用しなければならないホルムアルデヒドを使わないので安全性が高い

## 387A

染色液が安定性の高い溶液なので使いやすい  
(希釈後はすぐに使用)

### 酸性ホスファターゼ染色キット(製品番号 387A) の構成品

Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution (製品番号 387-1)

Fast Garnet GBC Base Solution (製品番号 387-2)

Acetate Solution (製品番号 386-3)

Tartrate Solution (製品番号 387-3)

Sodium Nitrite Solution (製品番号 91-4)

Citrate Solution (製品番号 91-5)

Hematoxylin Solution (製品番号 GHS-3)

### キット以外に必要な試薬

アセトン(製品番号[01-0460](#)など)

37% ホルムアルデヒド(製品番号[11-0720](#)な

サンプルはスライドガラスに固定した血液や骨髓液を使用します。

### 固定液の準備 (用時調整)

Citrate Solution 25 mL

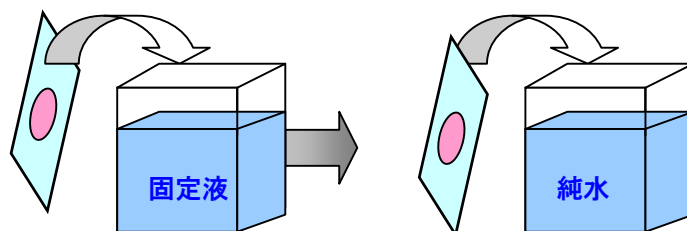
アセトン 65 mL

37% ホルムアルデヒド 8 mL

(ガラス容器内で混合後、密封して静置)

### 染色手順

1. 使用する純水を 37℃に温める
2. スライドを固定液に浸け、室温(18~26 °C)で 30 秒間静置  
→純水で洗浄 **注意: スライドを乾燥させない**

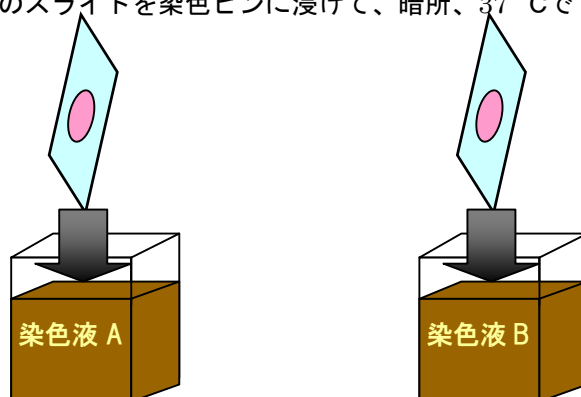


3. チューブを 2 本用意し、それぞれのチューブに 0.5 mL の Fast Garnet GBC Base Solution (387-2) と 0.5 mL の Sodium Nitrite Solution (91-4) を入れて 30 秒間転倒混和し、2 分静置

4. ビーカーA とビーカーB にそれぞれ以下の染色液を準備する。

	ビーカーA	ビーカーB
37℃に温めた純水	45.0 mL	45.0 mL
手順 3 で用意した Fast Garnet 溶液	1.0 mL	1.0 mL
Naphthol AS-BI Phosphoric Solution (387-1)	0.5 mL	0.5 mL
Acetate Solution(386-3)	2.0 mL	2.0 mL
Tartrate Solution (386-2)	—	1.0 mL

5. ビーカーA（染色液 A）とビーカーB（染色液 B）の溶液を染色ビンに移し、恒温槽で 37 °C に温める
6. それぞれのスライドを染色ビンに浸けて、暗所、37 °C で 1 時間インキュベート



7. 純水で洗浄し、Hematoxylin Solution に 2 分間浸けて、対比染色を行う
8. アルカリ性にした水で数分間リンスして、核を青色に染色させる
9. 風乾させてから封入※して顕微鏡で観察

※アルコールやキシレンによって染色像がぼやけることがあります

**水性の封入剤**

グリセロール-ゼラチン（グリセリンゼリー）

Glycerol Gelatin 製品番号 [GG1](#)

染色液 A ではすべての酸性ホスファターゼが褐色に染色され、  
染色液 B では破骨細胞など酒石酸に耐性のある酸性ホスファターゼが褐色に染色されます

オリジナルの製品説明書は [こちら](#)