

碱性磷酸酶染色液(偶氮偶联法)

货号: G1480

有效期: 6个月有效。

产品组成:

名称		4×2ml	4×10ml	保存
试剂(A): ALP 固定液		2 ml	10ml	RT 避光
试剂(B):	B1: AS-BI 染色液	1 ml	5ml	-20℃ 避光
ALP 孵育液	B2: FBB 染色液	1 ml	5ml	-20℃ 避光
临用时, 取 B1:B2=1:1 比例混合, 即为 ALP 孵育液, 即配即用。				
试剂(C): 核固红染色液		2 ml	10ml	4℃ 避光
试剂(D): 甲基绿染色液		2 ml	10ml	RT 避光

自备材料:

- 1、载玻片、湿盒
- 2、普通光学显微镜

产品简介:

碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, 简称 ALP 或 AKP)为一类磷酸酯酶, 广泛分布于哺乳动物组织内, 其活性所需最适 pH 9.2~9.8。此酶主要存在于物质交换活跃之处(细胞膜), 如肠上皮和肾近曲小管的刷状缘、附睾上皮之静纤毛、肝的毛细胆管膜以及微动脉和毛细血管动脉部之内皮, 还见于内质网、高尔基复合体、吞饮小泡、肠上皮之溶酶体、中性粒细胞之中性颗粒以及平滑肌之细胞膜。

碱性磷酸酶染色液(偶氮偶联法)不是采用金属沉淀法来显示碱性磷酸酶活性, 而是采用偶氮偶联法(又称同时偶联法), 其原理是在 pH9.2~9.8 的碱性条件下, 细胞内碱性磷酸酶可使 AB-BI 磷酸盐水解, 释放出磷酸与萘酚, 后者与偶联重氮盐生成有色产物, 定位于细胞质中。该染液可用于血液、骨髓或细胞涂片、冰冻切片、梯度入水后的石蜡切片等的碱性磷酸酶染色, 碱性磷酸酶活性部位呈蓝色, 位于胞浆, 结果较金属盐沉淀法可靠。

操作步骤(仅供参考):

一、涂片或切片

- 1、血液、骨髓或细胞涂片、冰冻切片、石蜡切片入ALP固定液固定3min(梯度入水后的石蜡切片无需固定), 水洗。
- 2、滴加配制好的 ALP 孵育液, 放入湿盒中, 避光孵育 15~20min, 水洗。
- 3、入核固红染色液或甲基绿染色液复染 3~5min。
- 4、水洗、镜检或甘油明胶封固后镜检。

二、贴壁培养细胞

- 1、取6孔板或其他容器培养的细胞, 弃液, PBS清洗干净。

- 2、 加入ALP固定液固定3min或4%多聚甲醛固定10~15min，PBS清洗。
- 3、 滴加配制好的 ALP 孵育液，放入湿盒中，避光孵育 15~20min，PBS 清洗。
- 4、 入核固红染色液或甲基绿染色液复染 3~5min。
- 5、 PBS 清洗、镜检。

染色结果：

ALP 活性部位	蓝色
细胞核	红色(核固红)或绿色(甲基绿)

血液、骨髓涂片结果判断：

一般以积分报告结果，根据 100 个中性粒细胞阳性颗粒进行 0-4 计分。

细胞分值	染色特点
0	无颗粒
1	稍有颗粒
2	中等程度颗粒
3	多数颗粒
4	充满颗粒

注意事项：

1. 血液或骨髓细胞涂片或其他样本均应新鲜，薄厚适宜，及时固定，否则会影响酶的活性。
2. 培养细胞染色操作过程中，清洗、染色等步骤都应轻微，以免损伤或丢失细胞。
3. ALP 孵育液易失效或降低阳性强度，即配即用，不宜久置。
4. 复染时，核固红染色液或甲基绿染色液二者取其一。
5. 每次染色时，应有阳性对照片。