上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co.， Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

碱性磷酸酶染色液(偶氮偶联法)

货号：R32769

规格：4*2ml，4*10ml，4*20ml

保存温度：-20℃保存，有效期 6 个月。

产品组成：

名称		4*2ml	4*10ml	4*20ml	保存
试剂(A)： ALP 固定液		2mL	10mL	20mL	室温，避光
试剂(B)：ALP 孵育液	B1：AS-BI 染色液	1mL	5mL	10mL	-20℃，避光
	B2： FBB 染色液	1mL	5mL	10mL	-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)：核固红复染液		2mL	10mL	20mL	2-8℃，避光
试剂(D)：甲基绿复染液		2mL	10mL	20mL	室温，避光
试剂 C、D 均为复染液，染色过程中择一使用即可，不建议重复染色。					

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。

碱性磷酸酶染色试剂盒(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 AS-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。

自备材料：

载玻片、湿盒、普通光学显微镜

操作步骤：(仅供参考)

试剂(C：核固红染色液可能会由于絮凝产生悬浮物或少量沉淀，建议取上清使用或沸水浴 5-10min 后晾至 30-40 ℃使用。(见注意事项 2)

(一)样本处理：

1.细胞涂片：取新鲜全血或骨髓制备涂片，推玻片于载玻片保持 30 度，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均匀铺开为止，自然晾干。

2.贴壁培养细胞、细胞爬片：吸去培养基，1XPBS 清洗 3-4 次，沥去多余水分。取出细胞爬片。

3.冰冻切片：从冰箱取出放置恢复室温，浸入蒸馏水清洗 1-2min，沥去多余水分。

4.石蜡切片：石蜡切片脱蜡 5-10min，重复一次。无水乙醇 5min，90%乙醇和 70%乙醇各 2min，蒸馏水浸洗 2min，沥去多余水分。

(二)染色孵育：

1.使用 2-8℃预冷的 ALP 固定液固定 30s-3min，多数情况下 30-60s 即可。

2.蒸馏水洗，沥去多余水分(不宜过分干燥)。

3.(切片处理)滴加 ALP 孵育液覆盖切片，置于盒内 37℃℃温箱孵育 15-20min，蒸馏水洗。

4.(贴壁细胞)滴加 ALP 孵育液覆盖细胞，置于 37° ℃温箱孵育 15-20min，蒸馏水洗。

5.复染：核固红或甲基绿复染液染色 3-5min。

(三)封片观察：

1.(切片处理)蒸馏水稍洗，沥去多余水分，滴加水性封片剂封片后镜检观察。

2.(贴壁细胞)蒸馏水稍洗，可带水或 1XPBS 镜下观察。

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. 试剂(C)：核固红染色液为胶体性质溶液，低温(低于 25℃)保存或长期储存由于絮凝产生悬浮物或少量沉淀，属于正常现象，一般不影响使用。如移液器吸取观察到明显浑浊，可拧紧瓶盖沸水浴 5-10min 重新制备分散均匀的胶体溶液来恢复使用。

3. 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。

4. ALP 孵育液易失效或降低阳性强度，即配即用，不宜久置。

5. 复染时，核固红染色液或甲基绿染色液二者取其一。

6. 每次染色时，应有阳性对照片。