

碱性磷酸酶染色液(偶氮偶联法)

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 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。该试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

组成:

名称		编号	R20429	R20429	Storage
			3×10ml	3×20ml	
试剂(A): ALP 固定液			10ml	20ml	RT 避光
试剂(B): ALP 孵育液	B1: AS-BI 染色液		3×2ml	5×2ml	-20℃ 避光
	B2: FBB 染色液		5ml	10ml	4℃ 避光
临用前, 按 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			10ml	20ml	4℃ 避光
说明书			一份		

自备材料:

- 1、载玻片、湿盒
- 2、显微镜
- 3、4%多聚甲醛固定液(备选)

操作步骤(仅供参考):

(一)涂片或切片

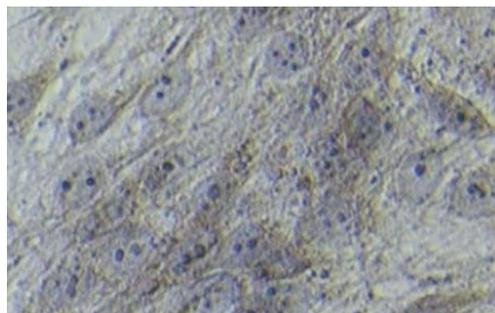
- 1、血液、骨髓或细胞涂片、冰冻切片、石蜡切片入 ALP 固定液固定 3min(梯度入水后的石蜡切片无需固定)，水洗。
- 2、滴加配制好的 ALP 孵育液，放入湿盒中避光孵育 15~20min，水洗。
- 3、入核固红染色液复染 3~5min。
- 4、水洗、镜检或甘油明胶封固后镜检。

(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 4%多聚甲醛固定 10~20min，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、入核固红染色液复染 0.5~3min。
- 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)



培养细胞染色图例(未经复染)

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

临床意义:

- 1、类白血病反应积分明显增高, 未经治疗的慢性粒细胞白血病积分明显减低。
- 2、急性细菌性感染积分明显增高, 病毒性感染积分多正常或减低。
- 3、再生障碍性贫血积分常增高, PNH、MDS 积分常减低。

注意事项:

- 1、AS-BI 染色液易失效, 应避免反复冻融, 临用前低温缓慢溶解, 不可用温水或热水助溶。
- 2、ALP 孵育液易失效或降低阳性强度, 即配即用, 不宜久置。
- 3、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。
- 4、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。
- 5、培养细胞或细胞爬片染色建议采用 4% 多聚甲醛固定液, ALP 固定液更适用于血液或骨髓细胞图片的固定, 染色时间应根据具体细胞特性而异。

有效期: 12 个月有效。