

# M5 HiPer 碱性磷酸酶 (AP) 染色液(偶氮偶联法)

## 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPer 碱性磷酸酶 (AP) 染色液(偶氮偶联法)	4x2ml	MF673-01

**【储存条件】:** -20℃, 避光保存, 有效期 6 个月。

### 【产品组分】:

试剂 A: ALP 固定液 2ml

试剂 B: ALP 孵育液, 包括 B1: AS-BI 染色液 1ml, B2: FBB 染色液 1ml。临用前, 取 B1: B2=1:1 比列混合, 即为 ALP 孵育液, 即配即用。

试剂 C: 核固红复染液 2ml

试剂 D: 甲基绿复染液 2ml

试剂 C 和 D 均为复染液, 染色过程中择一使用即可, 不建议重复染色。

**【自备材料】:** 载玻片, 湿盒, 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)采用偶氮偶联法来显示碱性磷酸酶活性, 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底物水解, 原位释放萘酚与呈色偶氮染料生成不溶有色产物, 定位于细胞质中。该染液可用于血液、骨髓或细胞涂片、冰冻切片等的碱性磷酸酶染色, 活性部位呈蓝色, 位于胞浆, 结果较金属盐沉淀法准确。

### 【使用方法】

**试剂 C: 核固红染色液可能会产生絮状沉淀, 建议去上清使用或者沸水浴 5-10min 后凉至 30 度左右使用。**

#### 一、样本处理:

- 1、细胞涂片: 取新鲜全血或者骨髓制备涂片, 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后, 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 度预冷的 ALP 固定液固定 30 秒-3min, 多数情况下 30-60 秒即可。
- 2、蒸馏水洗, 沥去多余水分, 但不宜过分干燥。
- 3、对切片处理: 滴加 ALP 孵育液覆盖切片, 置于湿盒内 37 度温箱孵育 15-20min, 蒸馏水洗。

- 4、对贴壁细胞处理：滴加 ALP 孵育液覆盖细胞，置于 37 度温箱孵育 15-20min，蒸馏水洗。
- 5、复染：核固红或甲基绿复染染色液染色 3-5min。

### 三、封片观察

- 1、对切片处理：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、对贴壁细胞处理：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、骨骼涂片结果判断：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. 血液或骨骼细胞涂片或其他样本均应新鲜，厚薄适宜，及时固定，否则会影响酶的活性。
2. 试剂 C：核固红染色液可能会产生絮状沉淀，建议去上清使用或者沸水浴 5-10min 后凉至 30 度左右使用。
3. 培养细胞染色操作过程中，清洗、染色步骤都应轻微，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. 每次染色时，应有阳性对照片
6. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗，食品及化妆品等用途。请勿存放于普通住宅区。2.为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。实验结果可由多种因素影响，相关处理只限于产品本身，不涉及其他赔偿。

### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。