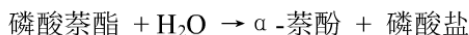


碱性磷酸酶染色试剂盒（蓝色） E1043

描述: 碱性磷酸酶(Alkaline Phosphatase, ALP), 也称碱性磷酸酯酶, 是动物和微生物生理过程中一种非常重要的酶, 常见于具有活跃转运功能的细胞膜内, 如肾近曲小管的刷毛缘、小动脉内皮、肝脏毛细胆管膜、肾上腺、膀胱、肠上皮、附睾上皮的静纤毛等处。在碱性环境中可以水解各种天然及人工合成的磷酸单酯化合物底物。碱性磷酸酶与人类疾病如高磷酸酯酶血症、一些骨骼和肝脏疾病的发生有关, 被用作很多疾病的辅助诊断依据; 检测碱性磷酸酶的活性对于环境监测、食品质量控制等方面具有重要的作用。此试剂盒采用偶氮偶联法(又称同时偶联法), 结果较金属盐沉淀法灵敏可靠。该试剂盒可用于骨髓或细胞涂片、冰冻切片和梯度入水后的石蜡切片等的碱性磷酸酶染色, 其染片数 50~100 张。

原理: 在 pH 9.2~9.8 的碱性条件下, 细胞的碱性磷酸酶将底物磷酸萘酯水解, 产生 α -萘酚, α -萘酚再与偶联重氮盐生成有色沉淀, 终产物的颜色因所用偶氮盐的品种不同有所不同。本试剂盒 α -萘酚与重氮剂固蓝 RR 偶联形成蓝色偶氮沉淀物, 沉淀物显示的颜色深浅与碱性磷酸酶活性成正比。:



组成: (100 次试剂组分, 50 次减半)

1. 染色液 A: 4.5 ml
2. 固蓝粉末: 3 管
3. 染色液 B: 9 ml
4. 封片剂: 6 ml

储存: -20°C 避光保存, 一年有效。

适用范围: 可用于骨髓或细胞涂片、冰冻切片和梯度入水后的石蜡切片等的碱性磷酸酶染色。

操作步骤:

1. 将固蓝试剂管短暂离心, 以防开管后, 固蓝粉末损失, 每管加纯水 1.5ml 溶解固蓝。固蓝溶液最好在使用当天配制。
2. 取适量固蓝溶液与等量的染液 A 混匀, 用细菌过滤器过滤, 除去其中的渣滓及沉淀物。(剩余的未与染液 A 混合的固蓝溶液, 根据下次的预期用量, 分装密封避光保存于-20°C, 避免反复开封与冻融, 一个月内有效。)
3. 将滤液滴加到玻片组织细胞处, 若是组织切片, 避光室温孵育 3~15min; 细胞涂片或石蜡切片, 避光室温孵育 30~40min, 若着色过浅, 可适当延长孵育时间, 但不要超过 1.5h。
4. 自来水流水洗 1-2min, 流水不能直接冲在组织上, 水流速度不能快, 以免损坏组织。
5. 滴加染液 B 复染, 室温孵育 1-3min, 水洗, 方法同步骤 4, 若着色过浅, 可适当延长孵育时间。
6. 镜检, 或封片后镜检。

染色结果: 碱性磷酸酶的活性部位呈蓝色, 细胞核被染成红色, 对比明显。。

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 |

说明:

1. 将溶解后的固蓝，与染液 A 混合后，往往会出现沉淀物，是未酯化的萘酚与固蓝偶联形成的，过滤后溶液清明略带蓝色。
2. 为防止染色过程中染液蒸干，可置入湿盒中避光孵育。
3. 在组织切片中，碱性磷酸酶可被下列物质所抑制：碘液、15%醋酸、三氯醋酸、聚雌二醇磷酸酯、铍、半胱氨酸、氰化物等。某些固定剂（如甲醛、丙酮、乙醇）和包埋过程（石蜡、聚乙二醇）都可在一定程度上抑制碱性磷酸酶活性，冰冻切片的包埋剂推荐普利莱的组织冰冻切片 OCT 包埋剂 C1400。
4. 由于偶联重氮盐生成的有色沉淀产物不溶于水，但溶于有机溶剂，所以封片时不能使用含二甲苯的封片剂，只能甘油明胶封片剂或水溶性封片剂。
5. 第一次使用本试剂盒时建议先取 1-2 个样品做预实验。