**碱性磷酸酶染色液(偶氮偶联法)说明书**

**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 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，位于胞桨，结果较金属盐沉淀法可靠。

**产品组成：**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  编号名称 | RC204293×10ml | RC204293×20ml | Storage |
| 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 |
| 使用说明书 | 1 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：**

**(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) |



**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。