

碱性磷酸酶染色液(偶氮偶联法)

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 pH9.2~9.8。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、付睾上皮之静纤毛、肝的毛细胆管膜以及微动脉和毛细血管动脉部之内皮。此酶还见于内质网, 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及吞饮小泡。

FUSHENBIO 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用 AB-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、骨髓或细胞图片、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红色, 位于胞浆, 结果较金属盐沉淀法可靠。

产品组成

名称		编号		
		FS0481-4×10ml	FS0481-4×20ml	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	5ml	10ml	-20℃ 避光
	B2:FBB 染色液	5ml	10ml	-20℃ 避光
【注】临用时, 取 B1:B2=1:1 比例混合, 即为 ALP 孵育液, 现配现用				
试剂 C:核固红染色液		10ml	20ml	4℃ 避光
试剂 D:甲基绿染色液		10ml	20ml	RT 避光
使用说明书		1 份		

存储条件: 6 个月有效。

自备材料

- 1、蒸馏水, 载玻片, 湿盒
- 2、普通光学显微镜

操作步骤 (仅供参考)

(一)涂片或切片染色

1. 血液、骨髓或者细胞涂片, 冰冻切片, 脱蜡后的石蜡切片入 ALP 固定液处理 30min。
2. 蒸馏水稍洗 5-10s。
3. 滴加配制好的 ALP 孵育液, 放入湿盒中, 避光孵育 15~20min,水洗, 蒸馏水清洗。

4. 入试剂 C:核固红染色液和试剂 D:甲基绿染色液复染 3~5min。
5. 流水洗 5min 后, 镜检或甘油明胶封固后镜检。

(二)贴壁培养细胞

1. 取 6 孔板或者其他容器培养细胞, 弃液, PBS 清洗干净。
2. 切片入 ALP 固定液, 固定 3min 或者 4%多聚甲醛固定 10~15min, 蒸馏水清洗。
3. 滴加配制好的 ALP 孵育液, 放入湿盒中, 避光孵育 15~20min,水洗。蒸馏水清洗。
4. 入试剂 C:核固红染色液和试剂 D:甲基绿染色液复染 3~5min。
5. PBS 清洗、镜检。

染色结果:

ALP 活性部位	蓝色
细胞核	红色 (核固红复染) 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 积分。

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. ALP 孵育液、ALP 硫化液易失效, 最好分成小分储存, 一经开启立即使用。
2. 血液、骨髓细胞涂片或其他样本需新鲜, 取材后应立即处理, 否则会影响酶的活性。
3. 对冰冻切片染色时, 应减少切片在室温暴露的时间。
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. 组织固定需在 4℃冰箱进行, 时间不宜超过 24h, 否则酶活性会减弱或消失。
6. 复染时, 核固红染色液或甲基绿染色液二者取其一, 每次染色时, 应有阳性对照照片。
6. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。相关产品