ALP染色检测步奏

碱性磷酸酶（Alkaline phosphatase，ALP，AKP或AP）是一类磷酸酯酶，碱性条件下能够将核苷酸、蛋白、甾醇等分子去磷酸化，广泛分布于哺乳动物组织内。ALP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。还发现于内质网、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。

本碱性磷酸酶染色液（偶氮偶联法）（Alkaline Phosphatase Stain Solution (Coupling azo-dye Mehod)）利用的是偶氮偶联法来定性检测磷酸酶活性。工作原理是在pH 9.2-9.8的碱性条件下，细胞内ALP可使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、骨髓或细胞涂片、冰冻切片、石蜡切片等的ALP染色，ALP阳性反应部位呈蓝色，位于胞浆，染色结果比金属盐沉淀法相对可靠些。

产品组成

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 组分编号 | 组分名称 |  | 产品货号（规格） | | 保存方式 |
|  | MP7505-30ML | MP7505-60ML |
| MP7505-A | ALP固定液 |  | 10ml | 20ml | RT避光保存 |
| MP7505-B1 | AS-BI染色液 |  | 5ml | 10ml | -20℃避光保存 |
| MP7505-B2 | FBB染色液 |  | 5ml | 10ml | 2-8℃避光保存 |
| MP7505-C | 核固红染液 |  | 10ml | 20ml | 2-8℃避光保存 |

注意事项

1. 血液、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。
2. 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。
3. 培养细胞或爬片细胞不建议采用ALP固定液，此ALP固定液适用于血液或骨髓细胞涂片的固定。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

操作步骤

* ALP染色液的准备

临用前，取适量的AS-BI染色液（B1）和FBB染色液（B2）按照1：1比例混合，即得到ALP染色液，现配现用。

* 涂片或切片染色
* 贴壁细胞染色

2.1 取6孔板或其他容器培养的细胞，弃培养液，PBS清洗细胞。

2.2 加入4%多聚甲醛固定10-20min，PBS清洗细胞。

2.3 滴加新鲜配制的ALP染色液，放入湿盒，避光孵育15-20min，PBS清洗。

2.4 入核固红染色液复染30s~3min。

1. PBS清洗、镜检。

三、染色结果

|  |  |
| --- | --- |
| 阳性部位 | 蓝色 |
| 细胞核 | 红色（核固红） |

