碱性磷酸酶染液说明书(钙钴法)（简化版）

（货号：D001-2 Cell alkaline phosphatase stain cAKP）

【检验原理】

cAKP 在 pH 值 9.4 的环境下，以镁离子作为激活剂，能够把β-甘油磷酸钠水解出磷酸，磷酸与高浓度的钙盐结合形成无色的磷酸钙，再与硝酸钴作用形成磷酸钴，经硫化胺处理形成黑色的硫化钴沉淀在酶活性处。

【试剂组成】

试剂组成	试剂名称	试剂外观	D001-2-1 50 片	D001-2-2 100 片	D001-2-3 200 片	保存条件
试剂一	固定液	无色透明液体	15ml×2 瓶	30ml×2 瓶	60ml×2 瓶	4℃
试剂二	基质液 A	无色透明液体	15ml×1 瓶	30ml×1 瓶	60ml×1 瓶	4℃
试剂三	基质液 B	无色透明液体	0.5ml×1 瓶	1ml×1 瓶	2ml×1 瓶	4℃
试剂四	显色液 A	粉红色液体	15ml×1 瓶	30ml×1 瓶	60ml×1 瓶	4℃
试剂五	显色液 B	无色透明液体	15ml×1 瓶	30ml×1 瓶	60ml×1 瓶	-20℃
试剂六	复染剂	深红色液体	15ml×1 瓶	30ml×1 瓶	60ml×1 瓶	4℃

基质液的配制：试剂二基质液 A：试剂三基质液 B=20:1，混匀后待用，用多少配多少，滴染法每片只需基质液 A200μl，基质液 B10μl，配好的基质液应为无色透明液体，最好尽快使用。

试剂五的保存：试剂五需-20℃保存，必须在收到试剂后立即根据实验需要分装冻存，以避免反复冻融而导致试剂失效。

【储存条件及有效期】

本试剂盒中试剂五需置-20℃保存，其余试剂应置 2℃～8℃密封保存，有效期 6 个月。

【样本前处理】

石蜡切片需脱蜡及再水合：

① **脱蜡：**将石蜡切片放入 37℃～60℃的保温箱中 10 分钟左右，再放入二甲苯或无毒环保脱蜡剂 10 分钟，再放入二甲苯或无毒环保脱蜡剂 5 分钟。（**本所有无毒环保脱蜡剂供应**，可代替二甲苯，若使用本所无毒环保脱蜡剂，脱蜡时间调整为 15 分钟×2 次）；

本简化版说明书仅供参考

② **水合**：将已脱蜡的切片放入 95%乙醇 2 分钟→75%乙醇 2 分钟→30%乙醇 2 分钟→蒸馏水洗 2 分钟×3 次；

【染色步骤】

可用滴染法也可选用染缸法，样本量少可用滴染法，样本多可用染缸法

一、固定及水润：

① 新鲜血涂片、骨髓涂片、细胞涂片或爬片、用试剂一进行固定约 2～5 分钟，自然晾干。待染(冰冻切片及石蜡切片按常规处理，不需要固定)；

② 水润：固定后的样本及已脱蜡并水合的组织切片，请在染色前将样本切片用蒸馏水润洗 30 秒，以保持湿润；

二、滴染法：

① 滴加基质液数滴，覆盖已处理好的样本上， 37℃避光孵育 15 分钟左右，甩掉多余的染液，**不要水洗**；

② 立即滴加试剂四染液染色 5 分钟，水洗 30 秒，甩去多余的水，但要保持样本湿润；

③ 再滴加试剂五染色 30 秒左右，水洗 30 秒，甩去多余的水，但要保持样本湿润；

④ 滴加试剂六复染 30 秒，水洗 30 秒，甩干，镜检；

三、染缸法：

① 将将玻片放入基质液染缸中，37℃避光孵育 15 分钟，**不要水洗**；

② 将玻片转移至试剂四染液染缸中染色 5 分钟，水洗 30 秒，甩去多余的水，但要保持样本湿润；

③ 再放入试剂五染液染缸中染色 30～60 秒左右，水洗 30 秒，甩去多余的水，但要保持样本湿润；

④ 再放入试剂六染缸中染色 30 秒，水洗 30 秒，甩干，镜检；

【染色结果】

胞质中阳性反应呈现灰黑色颗粒或块状、条状沉淀。

本简化版说明书仅供参考