



酸性磷酸酶(ACP)染液说明书 (简化版)

(货号: D002-1-1 Acid Phosphate Stain)

【检验原理】

在酸性的缓冲液中, 细胞内酸性磷酸酶 (Acid Phosphate) 催化底物水解, 其生成物进而与一种稳定的重氮盐偶联, 生成不溶性的偶氮染料沉淀。

【储存条件及有效期】

本试剂盒 2~8℃密封保存, 有效期 3 个月。所有应用液配置后要立即使用, 当天一次用完。

【所需仪器】

光学显微镜、染缸、玻片、滴管、秒表、记号笔等。

【试剂组成及配制】

○ 简明试剂组成表

试 剂 组 成	试 剂 编 号	包 装 规 格		外 观
一、固定液		40ml×1 瓶		无色透明液体
二、底物液	底物反应液(一)	甲液	① A 粉×1 支	黑色粉末
			② B 液 500ul×1 支	无色透明液体
		乙液	③ C 粉×1 支	白色粉末
			④ D 液，500ul×1 支	无色透明液体
	底物反应液(二)	① E 粉×1 支		白色粉末
		② F 液，500ul×1 支		无色透明液体
底物反应液(三)	G 液，1ml×1 支		无色透明液体	
三、复染液	苏木素	10ml×1 瓶		紫红色液体
	甲基绿	10ml×1 瓶		绿色液体

○ 具体试剂配制及操作

一、固定液: 液体, 40ml×1 瓶

新鲜血涂片、细胞涂片或爬片、冰冻切片用固定液固定 5~10min。石蜡包埋的切片经脱腊后不需要再固定。

二、底物反应液(一)、(二)、(三)的组成及配制:

● 底物反应液(一) 组成及配制

组成: (1) A 粉×1 支 (2) B 液 500ul×1 支 (3) C 粉×1 支 (4) D 液 500ul×1 支

配制: 临用前将 B 液用移液器吸入 A 粉中充分溶解配成甲液, 备用; 再将 D 液移液器吸入 C 粉中充分溶解配成乙液, 备用; 最后将甲液与乙液混合成底物反应(一), 备用

● 底物反应液(二) 组成及配制:

组成: (1) E 粉×1 支 (2) F 液 500ul×1 支

配制: 临用前将底物反应液二的 F 液移液器吸入 E 粉中充分溶解配成底物反应液(二), 备用。



● 底物反应液(三): G 液 1ml×1 支, 备用

底物孵育液的配制:

染色缸染色孵育法:

- ① 将底物反应液(一)、(二)、(三)的备用液混合并充分混匀,
- ② 先在染缸内加 30 ml 蒸馏水, 37℃水浴 10 分钟,
- ③ 将底物反应液(一)、(二)、(三)依次加入已预温的蒸馏水中,
- ④ 然后将样本玻片固定, 水洗后还未完全干前, 立即放入已准备好的反应孵育液中, 避光孵育 60 分钟。

三: 复染液: 苏木素液, 10ml×1 瓶

甲基绿液, 10ml×1 瓶

孵育完后, 取出水洗 1 分钟, 在玻片尚未完全干之前进行复染。

可用苏木素复染 1~2 分钟, 或用甲基绿复染 2~3 分钟, 两者取其一。

【样本染色前处理及染色】

○ 血涂片及骨髓涂片

- 1、推片: 取全血或骨髓 3 微升左右置载玻片上, 将推玻片保持与载玻片 30 度角, 置于血滴正前方, 稍往后移与血滴接触, 血滴沿推片下缘散开, 再匀速沿载玻片平面平稳向前滑动, 至血液铺完血膜为止。满意效果为不太薄, 以免细胞太少, 也不要太厚, 以免太重叠。
- 2、晾干: 使涂片在空气中自然晾干, 再放入本试剂盒中的固定液内固定 2~3 分钟, 水洗约 30~60 秒。
- 3、一定注意水洗后不要太干时放入底物液中孵育 60 分钟 (太干后染色效果欠佳)。

○ 石蜡切片

- 1、二甲苯中脱蜡 5-10 分钟。再换用新鲜的二甲苯, 脱蜡 5~10 分钟。
- 2、无水乙醇 5 分钟。再 90%、70%乙醇各 2 分钟。
- 3、水合: 蒸馏水 2 分钟。

○ 冰冻切片

- 1、回温: 将预先制作好的并保存在 -20℃冰箱中的冰冻切片放置到切片架上回温[注]约 5~10 分钟。

[注]: ① 可放到 37℃孵箱中进行回温;

② 在 37℃水浴箱中放一个小盒子, 再将从冰箱中取出的切片架放到盒中, 让冰冻切片回温到 37℃

- 2、水合: 将回温好的切片, 水中浸泡 1~2 分钟。

【染色结果】

阳性反应为鲜红色或深红色颗粒, 定位胞浆。