

中性粒细胞碱性磷酸酶染色液(NAP)

测定意义:

碱性磷酸酶(Alkalinephosphatase, 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、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。

BIOISCO 中性粒细胞碱性磷酸酶染色液(NAP)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 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。该染液专门用于血液或骨髓细胞涂片的中性粒细胞的碱性磷酸酶染色,碱性磷酸酶活性部位呈蓝色, 位于胞浆, 结果较金属盐沉淀法可靠。

组成:

产品名称		SE006-4×2ml	SE006-4×10ml	Storage
试剂(A):NAP 固定液		2ml	10ml	RT 避光
试剂(B):NAP 孵育液	B1:AS-BI 染色液	1ml	5ml	-20°C 避光
	B2:FBB 染色液	1ml	5ml	4°C 避光
临用前, B1:B2 混合, 即为 NAP 孵育液, 即配即用。				
试剂(C):核固红染色液		2ml	10ml	RT 避光
试剂(D):甲基绿染色液		2ml	10ml	RT 避光
说明书		1 份		

保存条件: 4°C避光保存, 半年有效。

自备仪器和用品:

- 1、载玻片
- 2、4%多聚甲醛
- 2、显微镜



操作步骤:

(一)、涂片

- 1、制备新鲜血液或骨髓细胞涂片，NAP 固定液固定，充分水洗。
- 2、滴加配制好的 NAP 孵育液，孵育，水洗。
- 3、滴加核固红染色液或甲基绿染色液复染。水洗、晾干、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 NAP 固定液固定或多聚甲醛固定，PBS 清洗。
- 3、滴加配制好的 NAP 孵育液，放入湿盒中，避光孵育，PBS 清洗。
- 4、入核固红染色液或甲基绿染色液复染。PBS 清洗、镜检。

染色结果:

NAP 阳性颗粒	蓝色
细胞核	红色(核固红)或绿色(甲基绿)

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

注意事项:

- 1、血液或骨髓细胞涂片应新鲜，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、NAP 孵育液易失效或降低阳性强度，即配即用，不宜久置。
- 4、复染时，核固红染色液或甲基绿染色液二者取其一。
- 5、每次染色时，应有阳性对照片。
- 6、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

