

酸性磷酸酶染色试剂盒（改良Gomori钙钴法）

货号：AC11618

规格：3×50mL

保存：2-8℃，避光保存，有效期6个月

产品组成：

名称	3×50mL	保存
试剂(A): ALP 孵育液	50mL	2-8℃, 避光
试剂(B): Co 溶液	50mL	室温, 避光
试剂(C): 硫化液	2×1mL	室温, 避光
试剂(D): ALP 对照液	10mL	2-8℃, 避光

产品介绍：

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 pH 9.2-9.8。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。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。

本试剂盒用金属沉淀法来显示碱性磷酸酶活性。此法以天然存在的 β -甘油磷酸钠为底物, 经酶水解释放出磷酸, 立即被钙离子沉淀为磷酸钙, 再次被置换为磷酸钴, 最终被硫化液置换为黑色沉淀。

自备材料：

蒸馏水、温箱或水浴锅

操作步骤：（仅供参考）

(一)石蜡切片染色

1. 石蜡切片脱蜡至蒸馏水。
2. 切片入 ALP 孵育液中, 37℃孵育 2-12h。流水洗 2min, 入蒸馏水。
3. 入试剂 B 中, 37℃孵育 5min。流水洗 5min 后, 入蒸馏水。
4. 在上述过程中, 配制硫化工作液, 即取试剂(C)用蒸馏水或者去离子水稀释 50 倍, 即为硫化工作液, 即配即用。切片入硫化工作液, 孵育 1-2min。流水洗 10min, 入蒸馏水。
5. (可选)核固红复染细胞核, 蒸馏水洗。
6. 石蜡切片常规脱水、透明, 树胶封片。

(二)冰冻切片染色

1. 冰冻切片在丙酮-氯仿等量混合液内, 4℃固定 2-5min。
2. 切片入 ALP 孵育液, 37℃孵育 45-75min。流水洗 2min, 入蒸馏水。
3. 入试剂 B 中, 37℃孵育 5min。流水洗 5min 后, 入蒸馏水。
4. 在上述过程中, 配制硫化工作液, 即取试剂(C)用蒸馏水或者去离子水稀释 50 倍, 即为硫化工作液, 即配即用。切片入硫化工作液, 孵育 1-2min。流水洗 10min, 入蒸馏水。
5. (可选)核固红复染细胞核, 蒸馏水洗。
6. 冰冻切片用甘油明胶封片。

染色结果：

酶所在阳性部位	黑色硫化钴沉淀
细胞核	红色(核固红复染)

阴性对照(可选)：

1. 试剂(D)为不含底物的孵育液。取相同的切片入试剂(D)--ALP 对照液, 而不是 ALP 孵育液, 其余相同。阴性对照结果为阴性。
2. (备选方案)切片进入孵育液前, 可先经碘液和 5%硫代硫酸钠溶液各 3min, 充分水洗后再进行孵育等

步骤,可用此法作阴性对照。

注意事项:

1. ALP 孵育液、ALP 硫化液易失效,最好分成小份储存,一经开启立即使用。
2. 硫化液具有腐蚀性,操作应小心。
3. 对冰冻切片染色时,应减少切片在室温暴露的时间。
4. 样本需新鲜,取材后应立即处理,否则会影响酶的活性。
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. 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。