

碱性磷酸酶-PAS联合染色液

货号: AC11773

规格: 6×50mL

保存: 2-8℃, 避光保存, 有效期3个月

产品组成:

名称	6×50mL	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): ALP 硫化溶液	2×1mL	室温, 避光
试剂(D): 氧化剂	50mL	2-8℃, 避光
试剂(E): Schiff 试剂	50mL	2-8℃, 避光
试剂(F): 亚硫酸溶液	50mL	室温, 避光
试剂(G): 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膜之内皮。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。1946年 McManus 最先使用 PAS 法显示黏蛋白, 该法常用来显示糖原和其他多糖。氧化剂能氧化糖类及有关物质中的 1,2-乙二醇基使之变为二醛, 醛与 Schiff 试剂能结合成一种品红化合物, 产生紫红色。由于氧化剂还可氧化细胞内其他物质, 使用时应注意选择好浓度和氧化时间, 使氧化控制在既能把乙二醇基氧化成醛基又不至于过氧化。

ALP-PAS 联合染色液不仅能够显示碱性磷酸酶活性位点和糖原等物质, 亦能区分二者。冰冻切片及石蜡切片均可。

自备材料:

蒸馏水、温箱或水浴锅

操作步骤: (仅供参考)

1. 石蜡切片脱蜡至水, 冰冻切片直接入水。
2. 冰冻切片在丙酮-氯仿等量混合液内, 4℃固定 2-5min。
3. 切片入 ALP 孵育液(阴性对照切片入 ALP 对照液), 置于 37℃温箱。冰冻切片孵育 5-15min, 石蜡切片孵育 2-12h。流水洗 2min 后入蒸馏水。
4. 入 Co 溶液, 置于 37℃温箱染色 5min。流水洗 5min 后入蒸馏水。
5. 上述过程中配制 ALP 硫化工作液, 即取试剂(C)用蒸馏水稀释即为 ALP 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 后入蒸馏水。
6. 入氧化剂室温氧化 5-10min。蒸馏水换洗。
7. 入 Schiff 试剂, 置于温箱染色 10-15min。
8. 亚硫酸溶液:蒸馏水按 1:10 的比例配制亚硫酸工作液, 清洗 2min, 入蒸馏水洗 5min。

9. 冰冻切片直接用甘油明胶封片，石蜡切片脱水。常规透明，中性树胶封片。

染色结果：

碱性磷酸酶活性部位	黑色
PAS 阳性物质	紫红色

阴性对照：(可选)

1. ALP 对照液为不含底物的孵育液。取相同的切片入 ALP 对照液，其余同上。结果为阴性。
2. (备选方案)切片进入 ALP 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. 本染色液适用于冰冻切片、石蜡切片。染色过程中注意控制氧化剂的处理时间，否则容易褪色。
2. 碱性磷酸酶显色后，经氧化剂应特别小心，严格控制时间，否则褪色。
3. 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。
4. ALP 硫化液具有腐蚀性和刺激性气味，应小心操作。
5. 对冰冻切片染色时，应减少切片在室温暴露的时间。