



碱性磷酸酶染色液(改良 Gomori 钙钴法)

简介:

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。

碱性磷酸酶染色液(改良 Gomori 钙钴法)采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, 磷酸根与钙离子结合为磷酸钙沉淀, 再依次被置换为磷酸钴和硫化钴, 最终产物为黑色硫化钴沉淀。该试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

组成:

名称 \ 编号	R20424 3 × 50ml	R20424 3 × 100ml	Storage
试剂(A): ALP 孵育液	50ml	100ml	4℃ 避光
试剂(B): 硝酸钴溶液	50ml	100ml	RT 避光
试剂(C): ALP 硫化液	2 × 1ml	3 × 1ml	RT 避光
试剂(D): ALP 对照液	10ml	20ml	4℃ 避光
说明书	一份		

自备材料:

- 1、蒸馏水
- 2、温箱或水浴锅



操作步骤(仅供参考):

(一)石蜡切片染色

- 1、石蜡切片二甲苯或脱蜡透明液脱蜡至蒸馏水。
- 2、切片入 ALP 孵育液中 37°C 孵育 2~12h, 流水洗 2min, 入蒸馏水。
- 3、入硝酸钴溶液中 37°C 孵育 5min, 流水洗 5min 后, 入蒸馏水。
- 4、在上述过程中配制 ALP 硫化工作液, 即取试剂(C)用蒸馏水稀释 50 倍, 即为 ALP 硫化工作液, 即配即用; 切片入硫化工作液, 孵育 2min。

5、流水洗 10min, 入蒸馏水。

6、(可选)核固红复染细胞核, 蒸馏水洗。

7、石蜡切片常规脱水, 二甲苯或脱蜡透明液透明, 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°C 固定 2~5min。
- 2、切片入 ALP 孵育液中 37°C 孵育 5~15min, 流水洗 2min, 入蒸馏水。
- 3、入硝酸钴溶液, 37°C 孵育 5min, 流水洗 5min 后, 入蒸馏水。
- 4、在上述过程中配制 ALP 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 ALP 硫化工作液, 即配即用; 切片入 ALP 硫化工作液, 孵育 1~2min。

5、流水洗 10min, 入蒸馏水。

6、(可选)核固红复染细胞核, 蒸馏水洗, 甘油明胶封片。

染色结果:

酶活性部位	黑色硫化钴沉淀
细胞核	根据复染液不同而不同

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。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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、ALP 孵育液、ALP 硫化液易失效, 最好分成小分储存, 一经开启立即使用。
- 2、ALP 硫化液具有腐蚀性和刺激性气味, 应小心操作。
- 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、组织在石蜡包埋时, 温度不宜高于 56℃。应使用熔点为 52~54℃的石蜡进行浸蜡, 浸蜡时间要短, 否则酶活性会减弱或消失。
- 7、不纯的二甲苯会分解黑色沉淀, 宜选用 AR 级以上的二甲苯。

有效期: 6 个月有效。