

酸性磷酸酶染色液(硝酸铅法)

简介:

酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)分布极广泛, 遍布各种组织, 主要存在于细胞的溶酶体内, 所以常作为溶酶体标志酶。溶酶体外的酸性磷酸酶存在于内质网和胞质内, 各种动物中的酸性磷酸酶各有不同, 酸性磷酸酶的适宜 pH 为 4.5~5.5。

酸性磷酸酶染色液以 β -甘油磷酸钠为底物, 在酸性 pH 下被酸性磷酸酶水解释放出磷酸盐, 遇铅离子则生成磷酸铅沉淀, 再被 S^{2+} 置换, 最终生成硫化铅棕黑色沉淀, 酸性磷酸酶的一般抑制剂为氟化物、磷酸根离子。对某些酸性磷酸酶来讲, Cu^{2+} 、酒石酸根离子和四氯化碳以及醛类也都是抑制剂, Mn^{2+} 为该酶的激活剂, 冰冻切片和石蜡切片均可, 但多用冰冻切片, 临床上该染色法对前列腺癌和其他脏器的转移性前列腺癌呈强阳性反应, 霍奇金淋巴瘤、胃癌、肺癌、乳腺癌、舌表皮性癌、多核巨细胞瘤的瘤细胞质也呈强阳性反应, Ewing 肉瘤、成骨肉瘤等呈阴性反应。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	R20437 2×50ml	Storage
试剂(A): ACP 孵育液	50ml	4℃ 避光
试剂(B): ACP 硫化液	2×1ml	RT 避光
试剂(C): ACP 对照液	10ml	4℃ 避光
说明书	一份	

自备材料:

- 1、蒸馏水
- 2、恒温箱

3、封片剂

操作步骤(仅供参考):

(一)冰冻切片染色

- 1、冰冻切片至蒸馏水。
- 2、切片入 ACP 孵育液，置于 37℃温箱，浸染 15~60min。
- 3、入 37℃蒸馏水中洗 2 次，每次 1min，以去除未被吸附的铅。
- 4、在上述过程中配制 ACP 硫化工作液，即取试剂(B)用蒸馏水稀释 50 倍，即为 ACP 硫化工作液，即配即用；切片入硫化工作液，孵育 1~2min。
- 5、流水冲洗 3~5min，蒸馏水洗。
- 6、(可选)核固红复染细胞核，蒸馏水洗，甘油明胶封片。

(二)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 ACP 孵育液，置于 37℃温箱，浸染 4~12h，可以延长至 24h。
- 3、入 37℃蒸馏水中洗 2 次，每次 1min，以去除未被吸附的铅。
- 4、在上述过程中配制 ACP 硫化工作液，即取试剂(B)用蒸馏水稀释 50 倍，即为 ACP 硫化工作液，即配即用；切片入硫化工作液，孵育 1~2min。
- 5、流水冲洗 3~5min，蒸馏水洗。
- 6、(可选)核固红复染细胞核，蒸馏水洗。
- 7、石蜡切片脱水，常规二甲苯或脱蜡透明液透明，中性树胶封片。

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):

将切片置入试剂(C)--ACP 对照液中，室温 1~2h 孵育，其余步骤相同，结



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

果为阴性。

注意事项:

- 1、ACP 孵育液、ACP 硫化液易失效，最好分成小分储存。ACP 硫化液具有腐蚀性。
- 2、对冰冻切片染色时，应减少切片在室温暴露的时间。
- 3、样本需新鲜，取材后应立即处理，否则会影响酶的活性。
- 4、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。
- 5、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。
- 6、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。

