

碱性磷酸酶染色液(改良 Gomori 钙钴法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

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。

产品组成：

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
碱性磷酸酶染色液(改良 Gomori 钙钴法)	3×50ml/3×100ml	RT	1 份	6 个月
试剂(A): ALP 孵育液	50ml/100ml	RT	1 份	6 个月
试剂(B): 硝酸钴溶液	50ml/100ml	RT	1 份	6 个月
试剂(C): ALP 硫化液	2×1ml/3×1ml	RT	1 份	6 个月
试剂(D): ALP 对照液	10ml/20ml	RT	1 份	6 个月

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℃孵育 2~12h, 流水洗 2min, 入蒸馏水。
- 3、入硝酸钴溶液中 37℃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℃固定 2~5min。
- 2、切片入 ALP 孵育液中 37℃孵育 5~15min, 流水洗 2min, 入蒸馏水。
- 3、入硝酸钴溶液, 37℃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。
- 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。

