

## 碱性磷酸酶染色液(改良 Gomori 钙钴法)

### 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。

Leagene 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 $\beta$ -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：

| 名称 \ 编号        | DE0001<br>3×50ml | DE0001<br>3×100ml | Storage |
|----------------|------------------|-------------------|---------|
| 试剂(A): ALP 孵育液 | 50ml             | 100ml             | 4°C 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             | 4°C 避光  |
| 试剂(D): ALP 对照液 | 10ml             | 20ml              | 4°C 避光  |
| 使用说明书          | 1 份              |                   |         |

### 自备材料：

- 1、蒸馏水、二甲苯或环保脱蜡透明液、甘油明胶
- 2、恒温箱或水浴锅、染色缸

### 操作步骤(仅供参考)：

染色前配制 ALP 硫化工作液：取 ALP 硫化液用蒸馏水稀释 50 倍, 即配即用。

#### (一)石蜡切片染色

- 1、石蜡切片二甲苯或 Leagene 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、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 Leagene 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、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，最好分成小份储存，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。
- 8、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：**6 个月有效。低温运输，按要求保存。