

碱性磷酸酶-PAS 联合染色液

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pH9.2~9.8, 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。1946年McManus最先使用高碘酸-雪夫技术显示黏蛋白, 该法常用来显示糖原和其他多糖; 过碘酸(高碘酸)是一种强氧化剂, 它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, 由于高碘酸还可氧化细胞内其他物质, 使用时应注意选择好高碘酸浓度和氧化时间, 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。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	ADS002DE0 6 × 50ml	Storage
试剂(A): ALP 孵育液	50ml	4°C 避光
试剂(B): 硝酸钴溶液	50ml	RT
试剂(C): ALP 硫化溶液	2 × 1ml	4°C 避光
试剂(D): 高碘酸溶液	50ml	4°C 避光
试剂(E): Schiff 试剂	50ml	4°C 避光
试剂(F): 亚硫酸溶液	50ml	RT
试剂(G): ALP 对照液	10ml	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、温箱或水浴锅、染色缸

操作步骤

- 1、石蜡切片二甲苯或脱蜡透明液脱蜡至蒸馏水，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、入硝酸钴溶液，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。
- 6、流水洗10min后入蒸馏水。
- 7、入高碘酸溶液室温氧化2~5min。蒸馏水换洗3次。
- 8、入Schiff试剂置于37℃温箱染色10~30min。
- 9、按亚硫酸溶液:蒸馏水=3:1的比例配制亚硫酸工作液，清洗3次，每次2min，入蒸馏水。
- 10、冰冻切片直接用甘油明胶封片；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

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、该染色液适用于冰冻切片、石蜡切片；染色过程中注意控制高碘酸处理的时间，否则容易褪色。
- 2、碱性磷酸酶显色后，经高碘酸应特别小心，严格控制时间，否则褪色。
- 3、ALP孵育液、ALP硫化液易失效，最好分成小分储存，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。
- 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。低温运输，按要求保存。

