

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 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。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。

Leagene 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	DE0002 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 Leagene 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 Leagene 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，最好分成小份储存，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 个月有效。低温运输，按要求保存。

相关产品:

产品编号	产品名称
CC0130	胰蛋白酶-EDTA 溶液(0.25%:0.02%)
DF0111	组织固定液(10% NBF)
DG0005	糖原 PAS 染色液
DH0006	苏木素伊红(HE)染色液(醇溶)
DZ0209	脱钙终点检测试剂盒(化学法)
DZ2011	环保浸蜡脱蜡透明液
NR0040	RNase A(10mg/ml)
OR0001	pH 标准缓冲溶液(pH=4.00)
PT0001	BCA 蛋白定量试剂盒
TC0699	植物总糖和还原糖检测试剂盒(DNS 比色法)
TE0002	碱性磷酸酶(ALP)检测试剂盒(PNP 微板法)