



碱性磷酸酶染色液(改良Gomori钙钴法)

【产品组成】

试剂(A):ALP孵育液	50ml	100ml	4℃, 避光
试剂(B):硝酸钴溶液	50ml	100ml	室温, 避光
试剂(C):ALP硫化液	2×1ml	3×1ml	室温, 避光
试剂(D):ALP对照液	10ml	20ml	4℃, 避光

【保存条件】

4℃, 避光, 3 个月

【产品概述】

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。

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。

【使用方法】

(一)石蜡切片染色

- 1、石蜡切片脱蜡至蒸馏水。
- 2、切片入ALP孵育液中, 37℃孵育2~12h。
- 3、流水洗2min, 入蒸馏水。
- 4、入硝酸钴溶液中, 37℃孵育5min。
- 5、流水洗5min后, 入蒸馏水。
- 6、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。
- 7、流水洗10min, 入蒸馏水。
- 8、(可选)核固红复染细胞核, 蒸馏水洗。
- 9、石蜡切片常规脱水、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, 37℃孵育5~15min。
- 3、流水洗2min, 入蒸馏水。
- 4、入硝酸钴溶液, 37℃孵育5min。
- 5、流水洗5min后, 入蒸馏水。
- 6、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。

7、流水洗10min，入蒸馏水。

8、(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。