



碱性磷酸酶-PAS联合染色液

【产品组成】

试剂(A):ALP 孵育液	50ml	4℃, 避光
试剂(B):硝酸钴溶液	50ml	室温
试剂(C):ALP 硫化溶液	2×1ml	室温, 避光
试剂(D):高碘酸溶液	50ml	4℃, 避光
试剂(E):Schiff 试剂	50ml	4℃, 避光
试剂(F):亚硫酸溶液	50ml	室温
试剂(G):ALP 对照液	10ml	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。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。

【使用方法】

- 1、石蜡切片脱蜡至蒸馏水, 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】

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、本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。