



AKP(碱性磷酸酶)改良钙钴法染色试剂盒

货号 M039

原 理:

此法选用镁离子 (Mg^{++}) 做激活剂, 以 β -甘油磷酸钠做底物, 在 pH 值 9.4 时, β -甘油磷酸钠被水解为甘油和磷酸, 释放出来的磷酸为高浓度的钙盐所捕获, 形成无色的磷酸钙。磷酸钙再与硝酸钴作用, 变成不溶解的磷酸钴。磷酸钴无色, 但经与硫化铵作用即成为黑色不溶性的硫化钴。故有黑色硫化钴存在的部位, 即证明有碱性磷酸酶活性的存在, 而根据其黑色的深浅程度又可估计此酶的活性强弱。

组织固定与包埋:

1. 取薄片组织置于 4℃ 冰箱中冷丙酮内固定 18-24h(固定 4-6h 后更换一次新的冷丙酮)
2. 入无水乙醇 I II 各 30min;
3. 入无水乙醇二甲苯等量混合液 30min; 二甲苯 I II 各 30min;
4. 以 52-54℃ 石蜡于 56℃ 烘箱内浸蜡 I II 各 30min;
5. 石蜡包埋。

保存条件:

4℃ 保存, 半年有效。

试剂盒组成:

产品编号	产品名称	包装
M039A	孵育液	50ml
M039B	硝酸钴溶液	50ml
M039C	硫化铵	10ml
M039D	阴性对照孵育液	30ml

实验流程:

1. 新鲜组织冰冻切片 6-8 μ m 或者石蜡切片经脱蜡至水洗;
2. 放入孵育液中置于 37℃ 温箱内孵育。冰冻切片 10-30min, 石蜡切片 1-2h (阴性对照片用阴性对照孵育液);
3. 蒸馏水稍洗;

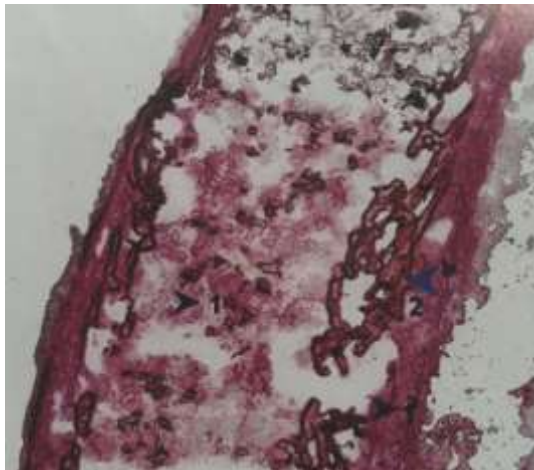
4. 入硝酸钴水溶液处理 2-5min;
5. 蒸馏水速洗一次;
6. 入硫化铵溶液处理 1-2min;
7. 流水冲洗 5min;
8. 冰冻切片用甘油明胶固定; 石蜡切片常规脱水、透明及封固。

染色结果:

碱性磷酸酶活性处呈黑色或棕黑色。

注意事项:

1. 每次实验都要有阴性对照片;
2. 组织固定必须在 4℃ 冰箱中进行, 且不超过 24h, 否则酶活性降低, 甚至酶活性消失;
3. 硫化铵溶液每次使用时应新鲜配制, 如需再用可重新配制。配制比例硫化铵:水溶液为 1:100 体积比, 用多少配多少。
4. 孵育液要放 4℃ 冰箱保存, 用前取出, 并提前放入温箱使之达到 37℃, 然后再把切片放入孵育, 孵育后放回冰箱, 此液可以使用数次。



小鼠股骨