

碱性磷酸酶钙钴法染色试剂盒（成骨染色）

说明书修订日期：2021.09.14

Cat number: KGA353

Store at 2-8°C for 6 months

For Research Use Only（科研专用）

一、产品简介

碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)在碱性环境下可催化各种酚和醇的磷酸酯水解,还具有磷酸转移作用,在细胞膜上运输作用较为活跃,如肾近端小管的刷状缘、小肠上皮的微绒毛、肝脏的胆小管、毛细血管内皮细胞及神经元的突触膜均可显示此酶活性。

在碱性环境(pH 9.2~9.4)中,碱性磷酸酶将磷酸盐的底物(如 β -甘油磷酸钠, α -萘酚磷酸钠)分解,产生的磷酸离子被孵育液中的钙离子捕获生成磷酸钙沉淀。因磷酸钙不能显色,需加入硝酸钴,用钴离子置换钙离子,形成磷酸钴沉淀后用硫化铵处理,形成棕黑色硫化钴颗粒沉淀,从而显示酶活性部位,硫化钴沉淀的多少与碱性磷酸酶含量成正比。

二、试剂组份

组份	KGA353	保存
孵育液 A	39.1 mL	2-8 度
孵育液 B	10.9 mL	
阴性对照液	10mL	
染色 A 液	50mL	
染色 B 液（棕色瓶）	50mL	

三、用户自备试剂（注意：本试剂盒不适用于细胞孔板，需客户自备细胞爬片）

- 1、丙酮或酒精
- 2、伊红染色液
- 3、去离子水
- 4、乙醇，二甲苯，混合封片剂

四、使用方法

1. 临用前将孵育液 A 和 B 混合为孵育工作液。
2. 细胞（或者血涂片）70%酒精固定。（注：也可以用冷丙酮替代 70%酒精）。蒸馏水洗去固定液。
3. 37 度，加孵育工作液覆盖样本 180 分钟。水洗 5-10 分钟。（注：阴性对照选用阴性对照液孵育 180 分钟，其他操作与正常组相同。）
4. 染色 A 液覆盖样本室温孵育 5 分钟，水洗 2 分钟。
5. 染色 B 液覆盖样本室温孵育 1 分钟，水洗 5 分钟。
6. （选做）伊红染色液复染细胞质。
7. 乙醇脱水梯度：75% 5min, 85% 5min, 95% 5min, 无水 5min。
8. 二甲苯两次,每次10min。
9. 混合封片剂封片。