

货号: ZC-A0526

规格: 5×50ml

ATPase 染色液(钙钴法)

产品说明:

三磷酸腺苷酶(adenosine triphosphatase, ATPase)是一种水解酶,是催化 ATP 合成的一种酶。三磷酸腺苷酶根据所用激活剂、抑制剂以及酶定位的不同分为膜性三磷酸腺苷酶、肌球蛋白三磷酸腺苷酶、线粒体三磷酸腺苷酶等。ATPase 能水解三磷酸腺苷为磷酸腺苷和磷酸,此酶只作用于磷酸与磷酸之间的高能键,因而释放大量能量。其催化反应如下: $A-P-P-P + H_2O \rightarrow A-P-P + H_3PO_4 + \text{能量}$ 。

ATPase 染色(钙钴法)原理在于三磷酸腺苷酶水解三磷酸腺苷为二磷酸腺苷和磷酸,磷酸根与钙离子结合为磷酸钙沉淀,再被置换为磷酸钴,最终产物为黑色沉淀。

试剂盒组成:

名称	5×50ml	Storage
试剂(A): 碱性预孵育液	50ml	RT 避光
试剂(B): 酸性预孵育液	50ml	RT
试剂(C): ATPase 孵育液	50ml	4℃ 避光
试剂(D): Co 溶液	50ml	RT
试剂(E): ALP 硫化溶液	2×1ml	RT 避光
试剂(F): ATPase 对照液	10ml	4℃ 避光

操作步骤(仅供参考):

1. 冰冻切片直接入蒸馏水。
2. 一张切片入碱性预孵育液室温孵育 15min。另一张切片入酸性预孵育液室温孵育 5min,再入碱性预孵育液 30s。
3. 切片同时入 ATPase 孵育液,孵育 30-45min。
4. 1%氯化钙洗三次,每次 1min。。
5. 入 Co 溶液 3min,蒸馏水充分洗 4-5 次,流水冲洗 2min。
6. 在上述过程中配制 ALP 硫化工作液,即取试剂(E)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 1-2min。
7. 流水洗 10min 后,入蒸馏水。
8. 切片经 95%乙醇溶液及无水乙醇脱水。
9. 二甲苯透明,树胶封片。

染色结果:

酶所在阳性部位

黑色沉淀

肌纤维分型:

肌纤维分型	碱性预孵育液	酸性预孵育液
I 型	+	+++
II _A 型	+++	-
II _B 型	+++	-
II _C 型	+++	++

阴性对照(可选):

- 1、取对照切片，用试剂(F)-ATPase 对照液进行孵育，并与用 ATPase 孵育液孵育的切片进行比较。两者反应相同部位可能有非特异性磷酸(单酯)酶存在，两者不同部位才是 ATP 酶活性所在。
- 2、将切片入 80℃蒸馏水 10min，再与其他组织切片同时孵育，结果应为阴性。

注意事项:

1. 切片入孵育液前后不可用水冲洗。
2. 若要显示肌肉 ATPase 新鲜组织必须速冻后切片。
3. 若要鉴别肌纤维所属类型，最好用连续冰冻切片。应减少切片在室温暴露的时间。
4. 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。
5. ALP 硫化液具有腐蚀性和刺激性气味，应小心操作。
6. 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。