

## 肌纤维ATPase染色液（钙激活法）

产品货号：R23272

产品规格：4×50ml

### 产品简介：

三磷酸腺苷酶(adenosine triphosphatase, ATPase)是一种水解酶，是催化ATP分解产生能量的一种酶，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。肌球蛋白三磷酸腺苷酶(myosin ATPase)最适pH为9.2~9.4，被钙离子激活而被镁离子抑制。它分解ATP时所产生的能量供肌肉收缩之用。此酶定位于骨骼肌，常用来区分两型肌纤维。I型肌纤维又称红肌，是慢纤维，即肌纤维的收缩较慢而活动持久，其酶活性高，染色深；II型肌纤维又称白肌，是快纤维，即肌纤维的收缩快，但活动不持久，其酶活性低，染色淡。ATPase水解ATP反应如下：



肌纤维ATPase染色液(钙激活法)的原理是ATPase水解ATP为ADP和磷酸，磷酸与钙离子在酶活性部位结合形成无色的磷酸钙沉淀，磷酸钙经氯化钴处理形成磷酸钴，再经硫化液处理便形成棕黑色的硫化钴沉淀在酶活性部位。此酶利用酸或碱做前孵育处理，用碱做前孵育处理时，仅白肌纤维出现阳性反应，这对肌球蛋白ATPase是特异性的；用酸做前孵育处理时，红肌纤维首先倍染色。因此钙激活法的ATPase染色主要用来区分红肌和白肌，这对神经性肌萎缩和肌源性肌萎缩的诊断有一定价值。本产品仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成：

产品组成		4×50ml	保存条件
试剂(A): 酸性孵育液		50ml	4℃
试剂(B): 碱性孵育液		50ml	4℃
试剂(C): ATPase 孵育液	试剂(C1): ATPase 孵育液 A	25ml	4℃
	试剂(C2): ATPase 孵育液 B	25ml	4℃
试剂(D): ATPase 钴溶液		50ml	4℃ 避光
试剂(E): ATPase 硫化溶液		2×1ml	4℃ 避光

### 需自备的仪器和用品：

骨骼肌等组织的冰冻切片、水浴锅或恒温箱、蒸馏水、梯度乙醇、中性树胶、二甲苯或环保浸蜡脱蜡透明液。

### 操作步骤 (仅供参考)：

1. 取新鲜组织，低温恒冷冰冻切片(用液氮快速冷冻效果更佳)，厚度6μm，连续切片贴于玻片上，分别命名为A片、B片，切片不需要固定。
2. 配制ATPase孵育液：ATPase孵育液A和ATPase孵育液B等比例混合即可，pH应为9.3~9.5，即配即用。
3. 配制ATPase硫化工作液：ATPase硫化溶液用蒸馏水稀释50~100倍即可，即配即用。
4. 酸性孵育液、碱性孵育液和ATPase孵育液使用前应提前37℃孵育10min。
5. A片浸入酸性孵育液，37℃孵育5min，水冲洗5s，再浸入碱性孵育液37℃孵育30s，水冲洗5s。
6. 取B片浸入碱性孵育液，37℃孵育15min，水冲洗5s。
7. 将A片和B片浸入ATPase孵育液，37℃孵育30~60min，水冲洗5s。
8. 入ATPase钴溶液孵育3min，水冲洗5s。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

9. 切片入硫化工作液，孵育30~60s，水冲洗30s。
10. 常规脱水透明，中性树脂封固。

**染色结果：**ATPase主要呈黑色或棕黑色。

肌纤维类型	酸性孵育液	碱性孵育液
I(红肌)	深	淡
IIa(白肌)	淡	深
IIb(白肌)	中度	深

**注意事项：**

1. 三磷酸腺苷酶经固定后活性大受影响，因此切片不经固定。
2. ATPase孵育液经混合后pH接近9.4，此时比较适宜酶的染色，如有条件，应测定并调整pH合格后再使用。如果pH偏离很大或出现沉淀都可能导致染色失败，应即配即用。
3. ATPase硫化液有腐蚀性和刺激性气味，应小心操作。每次用过后应拧紧盖子，否则容易挥发失效。配制硫化工作液时应在通风橱内操作。
4. ATPase硫化工作液配后不久自行分解而失效，应每次少量配制。
5. 冰冻切片染色时，应减少切片在室温暴露的时间。
6. 染色效果与酸性孵育液、碱性孵育液、ATPase孵育液的pH变化有很大关系，尽量减少改变pH的因素，如避免反复开盖、避免室温放置过久等。
7. 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。4℃运输，4℃保存。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>