

## 肌纤维 ATPase染色液(钙激活法)

### 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

名称	编号	ADS019DE0	Storage
试剂(A): 酸性孵育液		4 × 50ml	
试剂(B): 碱性孵育液		50ml	4°C
试剂(C): ATPase孵育液	试剂(C1): ATPase 孵育液 A	25ml	4°C
	试剂(C2): ATPase 孵育液 B	25ml	4°C
试剂(D): ATPase 钴溶液		50ml	RT
试剂(E): ATPase 硫化溶液		2 × 1ml	4°C 避光
使用说明书		1份	

### 自备材料

- 1、骨骼肌等组织的冰冻切片

- 2、水浴锅或恒温箱
- 3、蒸馏水、梯度乙醇、中性树脂
- 4、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6 $\mu$ m，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 $^{\circ}$ C孵育10min。
- 5、A片浸入酸性孵育液，37 $^{\circ}$ C孵育5min，水冲洗5s，再浸入碱性孵育液37 $^{\circ}$ C孵育30s，水冲洗5s。
- 6、取B片浸入碱性孵育液，37 $^{\circ}$ C孵育15min，水冲洗5s。
- 7、将A片和B片浸入ATPase孵育液，37 $^{\circ}$ C孵育30~60min，水冲洗5s。
- 8、入ATPase钴溶液孵育3min，水冲洗5s。
- 9、切片入硫化工作液，孵育30~60s，水冲洗30s。
- 10、常规脱水透明，中性树脂胶封固。

**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，应每次小量配制。

- 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。低温运输，按要求保存。