



ATPase染色液(钙钴法)

【产品组成】

试剂(A):钙盐溶液	50ml	室温, 避光
试剂(B):ATPase 孵育液	50ml	4℃, 避光
试剂(C):硝酸钴溶液	50ml	室温
试剂(D):中性福尔马林	50ml	室温
试剂(E):ATPase 硫化溶液	2×1ml	室温, 避光
试剂(F):ATPase 对照液	10ml	4℃, 避光

【保存条件】

6个月有效。4℃运输, 4℃保存。

【产品概述】

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:



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, 再依次被置换为磷酸钴和硫化钴, 最终产物为黑色硫化钴沉淀。

【自备材料】

- 1、蒸馏水
- 2、恒温箱
- 3、中性福尔马林固定液

【使用方法】

- 1、冰冻切片直接入蒸馏水。
- 2、入钙盐溶液中, 37℃温箱5min。
- 3、入ATPase孵育液, 孵育40min, 蒸馏水洗1min。
- 4、入硝酸钴溶液孵育5min, 入蒸馏水。
- 5、入中性福尔马林固定液, 室温固定2min, 流水冲洗2min。
- 6、在上述过程中配制ATPase硫化工作液, 即取试剂(E)用蒸馏水稀释50倍, 即为ATPase硫化工作液, 即配即用。
- 7、切片入ATPase硫化工作液, 孵育2min。
- 8、流水洗10min后, 入蒸馏水, 甘油明胶封固。

【染色结果】

酶所在阳性部位	黑色或棕黑色
---------	--------



【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、ALP 孵育液、ALP 硫化液易失效，最好分成小分储存，一经开启立即使用。

2、ALP 硫化液具有腐蚀性和刺激性气味，应小心操作。

3、冰冻切片染色时，应减少切片在室温暴露的时间。