

ATPase 染色液(钙钴法)

简介:

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。该试剂仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

组成:

名称	编号	R20446 5×50ml	Storage
试剂(A): 钙盐溶液		50ml	RT 避光
试剂(B): ATPase 孵育液		50ml	4℃ 避光
试剂(C): 硝酸钴溶液		50ml	RT
试剂(D): 中性福尔马林		50ml	RT
试剂(E): ATPase 硫化溶液		2×1ml	4℃ 避光
试剂(F): ATPase 对照液		10ml	4℃ 避光
说明书			一份

自备材料:

- 1、恒温箱
- 2、蒸馏水、中性福尔马林固定液

操作步骤(仅供参考):

- 1、冰冻切片直接入蒸馏水。
- 2、入钙盐溶液中 37°C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 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°C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、ATPase 孵育液、ATPase 硫化液易失效, 最好分成小分储存, 一经开启立即使用。

2、ATPase 硫化溶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。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

4、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。

