



Skeletal Muscle

## Myofibrillar ATPase Stain Kit Procedure

100ml Kit Item #: KTATP

Liter Kit Item#: KTATPLT

Pint Kit Item #: KTATPPT

Gallon Kit Item#: N/A

Control Slide(s) | Item#

N/A

### Included Components

Type 1 Buffer	Cobalt Chloride Solution
Type 1&2BC Buffer	1N Sodium Hydroxide
Alkaline Buffer Stock	1N Hydrochloric Acid
Calcium Chloride Solution	ATP Powder

### Components Not Included

Ammonium Sulfide (Item#: SPA2226)

**PRINCIPLE AND RESULTS:** This kit is intended for use by laboratory professionals to stain routinely prepared frozen sections (in vitro) to identify and differentiate muscle types. Type 1 Buffer stains small type 1 fibers black and type 2C fibers grey. Type 1&2BC Buffer stains small type 1 fibers black, 2B and 2C fibers grey to black. Type 2AB Buffer stains type 2A and 2B fibers black.

**SPECIMEN CRITERIA:** A Minimum of three, Fresh, unfixed, properly prepared and frozen, 12 µm serialized muscle tissue sections. After preparing buffers and immediately before beginning staining procedure, allow frozen sections to warm up to room temperature for up to a maximum of five minutes.

**PRECAUTIONS:** For use by laboratory professionals. Sensitive and properly calibrated pH Meter is required for buffer and working solutions preparations. Dilute Sodium Hydroxide or Hydrochloric Acid pH adjustment solutions with distilled or DI water as necessary to achieve proper pH of working solutions. See SDS for complete warnings, precautions, hazard and precautionary statements, and disposal information.

**TYPE 1 BUFFER PREPARATION:** Prepare solution at time of use. Solution expires after 8 hours or out of pH range.

#	Action	Amount	Chemical/Reagent	Details
1	Add	20ml	Type 1 Buffer	Into a chemically clean container or new/unused plasticware.
2	pH	Drops	1N Hydrochloric Acid (to lower pH) or 1N Sodium Hydroxide (to raise pH)	pH must be between 4.25 and 4.35 (4.30 is ideal).

**TYPE 1&2BC BUFFER PREPARATION:** Prepare solution at time of use. Solution expires after 8 hours or out of pH range.

#	Action	Amount	Chemical/Reagent	Details
1	Add	20ml	Type 1&2BC Buffer	Into a chemically clean container or new/unused plasticware.
2	pH	Drops	1N Hydrochloric Acid (to lower pH) or 1N Sodium Hydroxide (to raise pH)	pH must be between 4.55 and 4.65 (4.60 is ideal).

**TYPE 2AB BUFFER PREPARATION:** Prepare solution at time of use. Solution expires after 90 minutes, two uses, or out of pH range.

#	Action	Amount	Chemical/Reagent	Details
1	Add	20ml	Alkaline Buffer Stock	Into a chemically clean container or new/unused plasticware.
2	pH	Drops	1N Hydrochloric Acid (to lower pH) or 1N Sodium Hydroxide (to raise pH)	Starting pH must be 10.45 to allow for natural pH drop during procedure. If two back-to-back uses, re-pH to 10.45 before second batch of slides.

**ATPase INCUBATION SOLUTION PREPARATION:** Prepare solution at time of use. Solution expires after 90 minutes, two uses, or out of pH range.

#	Action	Amount	Chemical/Reagent	Details
1	Add	20ml	Alkaline Buffer Stock	Into a chemically clean container or new/unused plasticware.
2	Add	32mg	ATP Powder	Mix thoroughly.
3	pH	Drops	1N Hydrochloric Acid (to lower pH) or 1N Sodium Hydroxide (to raise pH)	Starting pH must be 9.45 to allow for natural pH drop during procedure. If two back-to-back uses, re-pH to 9.45 before second batch of slides.

**1% AMMONIUM SULFIDE PREPARATION:** Prepare solution at time of use in fume hood. Solution expires after one use.

#	Action	Amount	Chemical/Reagent	Details
1	Add	200uL	Concentrated Ammonium Sulfide (Not Included)	Into a chemically clean container or new/unused plasticware.
2	Add	20ml	Distilled Water	Mix thoroughly

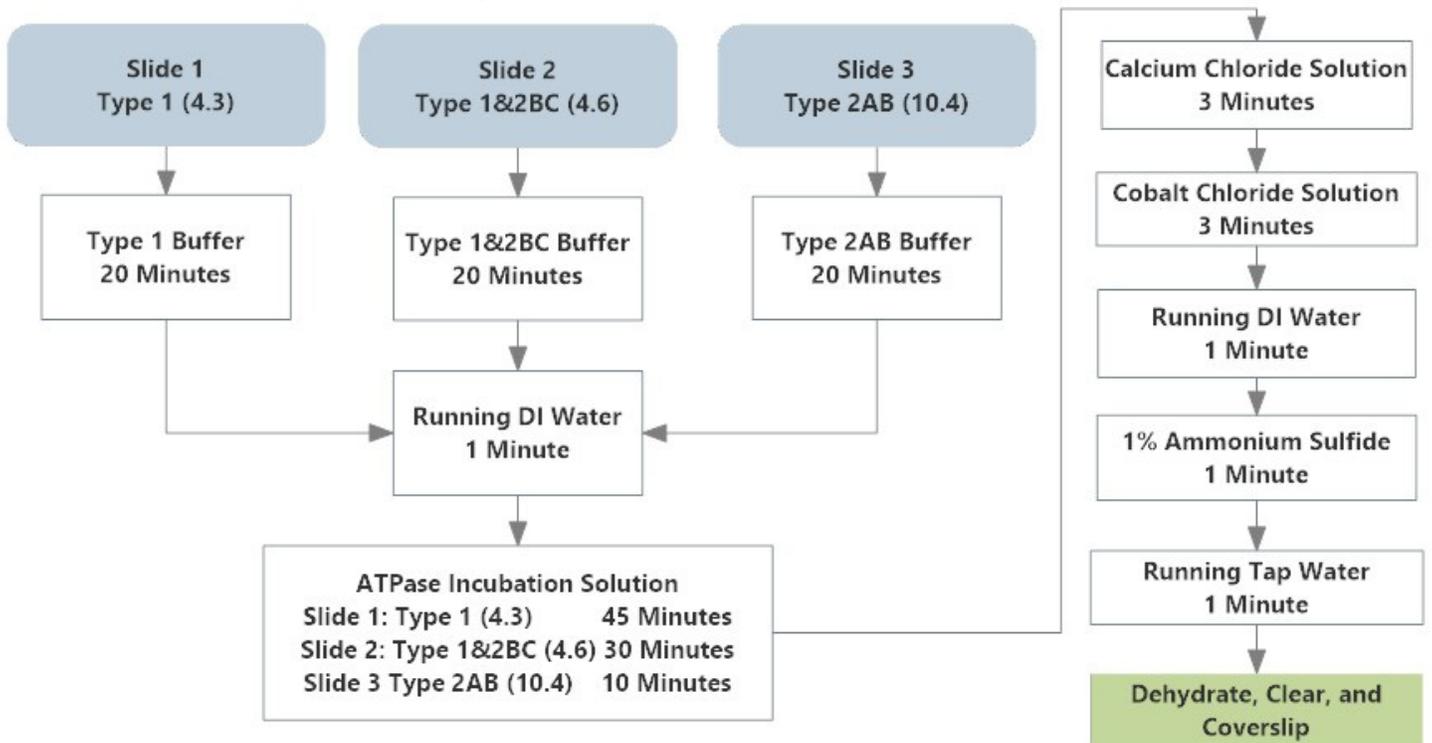
- Carson FL Hladik C: Histotechnology A Self Instructional Text, 2009, 318 – 320
- Modifications by AMTS Research & Development Department, 1979-2019.

**STAINING PROCEDURE:** Preheating may be required. See step 3 for more information.

 Color coordinated steps denote stain baths that can be reused during autostainer configuration.

#	Action	With	Heat °C	Time		Details
				Mins	Secs	
1	Immerse three separate, properly labeled serial-sectioned slides simultaneously into separate buffers as shown below.					
1a	Slide 1, Labeled: "Type 1 (4.3)"					
	Immerse	Type 1 Buffer	--	20	--	Once complete, continue to step 2.
1b	Slide 2, Labeled: "Type 1&2BC (4.6)"					
	Immerse	Type 1&2BC Buffer	--	20	--	Once complete, continue to step 2.
1c	Slide 3, Labeled: "Type 2AB (10.4)"					
	Immerse	Type 2AB Buffer	--	20	--	Once complete, continue to step 2.
2	Rinse	Running DI Water	--	1	--	
3	Immerse	ATPase Incubation Solution	37°	→	→	Slide 1 "Type 1 (4.3)" →45 Minutes. Slide 2 "Type 1&2BC (4.6)" →30 Minutes. Slide 3 "Type 2AB (10.4)" →10 Minutes. After each slide's time completes, do not rinse and continue to step 4.
4	Immerse	Calcium Chloride Solution	--	3	--	Without rinsing, continue to next step.
5	Immerse	Cobalt Chloride Solution	--	3	--	Once complete, <b>rinse in running DI water (1 minute)</b> and continue. If bath in step 2 does not change over at least once per minute, use a different bath.
6	Immerse	1% Ammonium Sulfide	--	1	--	Perform step under fume hood or exhaust-ventilated autostainer!
7	Rinse	Running Tap Water	--	1	--	
8	Dehydrate	Absolute Alcohol, 3 changes	--	1	--	1 minute each change.
9	Clear	Xylene or Substitute, 3 changes	--	1	--	1 minute each change or as required if using a xylene substitute.
10	Coverslip	Permanent Mounting Media	--	--	--	

**Myofibrillar ATPase Procedure Flowchart**



- Carson FL Hladik C: Histotechnology A Self Instructional Text, 2009, 318 – 320
- Modifications by AMTS Research & Development Department, 1979-2019.

### AUTOSTAINER CONFIGURATION AND NOTES:

This stain kit in the pint size or larger may be easily adapted for use on most open-platform autostainers using the staining procedure grid on the reverse side of this page. All buffer and working solutions preparations yield approximately 20ml of solution each for the manual procedure and each must be scaled up to accommodate desired autostainer bath size. A minimum of 9 baths is required to perform this procedure excluding deparaffinization, hydration, dehydration, and clearing, or 15 baths to run the complete procedure.

**TEST YIELD:** \*Assumes pint kit and maximum slides per run. Actual Results may vary. S.C. denotes number of slides between "Solution Change".

Bath Type	Uses	Slides	S.C.	Bath Type	Uses	Slides	S.C.
20ml Plastic Slide Jar	25	225	9	250ml Glass Stain Dish	2	169	85
30ml Glass Coplin Jar	16	216	14	200ml Bath Autostainer	2	144	72
40ml Helledahl Staining Jar	12	216	18	400ml Bath Autostainer	1	153	153

### CE MARKINGS AND DESIGNATIONS:

<b>REF</b>	Catalogue Number		Temperature Limitation		Manufacturer	American MasterTech Scientific 1330 Thurman St. Lodi, CA 95240 USA Tel 800 860 4073 Fax 209 368 4136
<b>LOT</b>	Batch Code		Use By	<b>EC REP</b>	Representative	Emergo Europe Prinsessegracht 20 2514 AP The Hague The Netherlands
<b>IVD</b>	In Vitro Diagnostic Medical Device		Consult Instructions Prior to Use	<b>CE</b>		
	Irritant		Health Hazard			

### CONTACT INFORMATION:

#### American MasterTech Scientific

1330 Thurman St.  
Lodi, CA 95240 USA  
Tel 800 860 4073  
Fax 209 368 4136  
www.americanmastertech.com

#### StatLab

2090 Commerce Drive  
McKinney, TX 75069 USA  
Tel 800 442 3573  
Fax 972 436 1369  
www.statlab.com

1. Carson FL Hladik C: Histotechnology A Self Instructional Text, 2009, 318 – 320
2. Modifications by AMTS Research & Development Department, 1979-2019.

**W**  
**MULTILINGUE PROCEDURE**

**PROCÉDURE DE KIT DE TACHANT EN FRANÇAIS**

**COMPOSANTS INCLUS:** Type 1 Buffer, Type 1 & 2C Buffer, Alkaline Buffer Stock, ATP Powder, Calcium Chloride Solution, Cobalt Chloride Solution, 1N Sodium Hydroxide, 1N Hydrochloric Acid. Non inclus: Ammonium Sulfide

**LES CRITÈRES D'ÉCHANTILLONS:** Un minimum de trois 12 sections um, frais, non fixées, bien préparés et congelés, sérialisés tissu musculaire. Après la préparation de tampons et immédiatement avant le début de la procédure de coloration, les coupes congelées permettent de se réchauffer jusqu'à la température ambiante jusqu'à un maximum de cinq minutes.

**LA PRINCIPLE ET LES RÉSULTATS:** Ce kit est destiné pour l'utilisation par des professionnels de laboratoire pour tacher des coupes congelées lesquels sont régulièrement préparés (in vitro) pour identifier et différencier les types de muscles. Type 1 Buffer taches petites fibres de type 1 et le type noir 2C fibres gris. Type 1 & 2BC Buffer taches petite de type 1 fibres noires, 2B et 2C fibres gris au noir. Tapez 2AB Buffer type taches 2A et 2B fibres noires.

**LES NOTES DE STOCKAGE ET D'UTILISATION:** Pour une utilisation par des professionnels de laboratoire. Sensible et correctement étalonné pH-mètre est nécessaire pour le tampon et les solutions de travail préparatifs. Diluer solutions d'ajustement hydroxyde de sodium ou acide chlorhydrique pH avec de l'eau distillée ou DI nécessaire pour atteindre bon pH des solutions de travail. Voir SDS pour les avertissements complets, les précautions, les dangers et les mises en garde et informations sur l'élimination.

**LA PRÉPARATION DE TYPE 1 BUFFER:** Préparez la solution au moment de l'emploi. Solution expire après 8 heures ou hors de portée de pH.

#	Action	Quantité	Chimique/Réactif	Détails
1	Ajoutez	20ml	Type 1 Buffer	Dans un récipient chimiquement propre ou un recipient en plastique nouveau.
2	pH	Gouttes	1N Hydrochloric Acid (pour abaisser le pH) ou 1N Sodium Hydroxide (pour élever le pH)	pH doit être compris entre 4,25 et 4,35 (4,30 est idéal).

**LA PRÉPARATION DE TYPE 1&2BC BUFFER:** Préparez la solution au moment de l'emploi. Solution expire après 8 heures ou hors de portée de pH.

#	Action	Quantité	Chimique/Réactif	Détails
1	Ajoutez	20ml	Type 1&2BC Buffer	Dans un récipient chimiquement propre ou un recipient en plastique nouveau.
2	pH	Gouttes	1N Hydrochloric Acid (pour abaisser le pH) ou 1N Sodium Hydroxide (pour élever le pH)	pH doit être compris entre 4,55 et 4,65 (4,60 est idéal).

**LA PRÉPARATION DE TYPE 2AB BUFFER:** Préparez la solution au moment de l'emploi. Solution expire au bout de 90 minutes, deux utilisations, ou hors de portée de pH.

#	Action	Quantité	Chimique/Réactif	Détails
1	Ajoutez	20ml	Alkaline Buffer Stock	Dans un récipient chimiquement propre ou un recipient en plastique nouveau.
2	pH	Gouttes	1N Hydrochloric Acid (pour abaisser le pH) ou 1N Sodium Hydroxide (pour élever le pH)	pH de départ doit être de 10,45 pour permettre la chute du pH naturel pendant la procédure. Si deux utilisations back-to-back, re-pH à 10,45 avant le second lot de diapositives.

**LA PRÉPARATION DE LA SOLUTION DE ATPase INCUBATION:** Préparez la solution au moment de l'emploi. Solution expire au bout de 90 minutes, deux utilisations, ou hors de portée de pH.

#	Action	Quantité	Chimique/Réactif	Détails
1	Ajoutez	20ml	Alkaline Buffer Stock	Dans un récipient chimiquement propre ou un recipient en plastique nouveau.
2	Ajoutez	32mg	ATP Powder	Complètement mélangez.
3	pH	Gouttes	1N Hydrochloric Acid (pour abaisser le pH) ou 1N Sodium Hydroxide (pour élever le pH)	pH de départ doit être de 9,45 pour permettre la chute du pH naturel pendant la procédure. Si deux utilisations back-to-back, re-pH à 9,45 avant le second lot de diapositives.

1. Carson FL Hladik C: Histotechnology A Self Instructional Text, 2009, 318 – 320
2. Modifications by AMTS Research & Development Department, 1979-2019.

**LA PRÉPARATION DE 1% AMMONIUM SULFIDE:** Préparez la solution au moment de de l'utilisation dans la hotte. Solution expire après une seule utilisation.

#	Action	Amount	Chemical/Reagent	Details
1	Ajoutez	200uL	Concentré Ammonium Sulfide ( <i>non inclus</i> )	Dans un récipient chimiquement propre ou un recipient en plastique nouveau.
2	Ajoutez	20ml	Eau distillée	Complètement mélangez.

**LA PROCÉDURE DE TACHANT:** La préchauffage est nécessaire. Pour l' information supplémentaire, faites référence aux étape 3.

 Les étapes couleur coordonnées dénotent les bûins a teinture lesquels peuvent être réutilisés lors de la configuration d'Autostainer.

#	Action	Avec	Temp °C	Durée		Détails
				mins	secs	
1	Immergez trois, diapositives série en coupe correctement étiquetés séparés simultanément dans des tampons séparés, comme indiqué ci-dessous.					
1a	La diapositive 1, Labellisé: "Type 1 (4.3)"					
	Immergez	Type 1 Buffer	--	20	--	Une fois que c'est terminé, continuez à l'étape 2.
1b	La diapositive 2, Labellisé: " Type 1&2BC (4.6)"					
	Immergez	Type 1&2BC Buffer	--	20	--	Une fois que c'est terminé, continuez à l'étape 2.
1c	La diapositive 2, Labellisé: " Type 2AB (10.4)"					
	Immergez	Type 2AB Buffer	--	20	--	Une fois que c'est terminé, continuez à l'étape 2.
2	Rincez 	L'eau DI (distillée) courante	--	1	--	
3	Immergez	La Solution de ATPase Incubation	37°	→	→	La diapositive 1 "Type 1 (4.3)" →45 minutes. La diapositive 2 "Type 1&2BC (4.6)" →30 minutes. La diapositive 3 "Type 2AB (10.4)" →10 minutes. Après le temps de chaque diapositive est terminée, ne pas rincer et continuer à l'étape 4.
4	Immergez	La Solution de Calcium Chloride	--	3	--	Sans rincez, continuez à l'étape suivante.
5	Immergez	La Solution de Cobalt Chloride	--	3	--	Une fois que c'est terminé, rincez sous l'eau DI courante (pour 1 minute) et continuez. Si le bain à l'étape 2 ne change pas au moins une fois par minute, utiliser un bain différent.
6	Immergez	1% Ammonium Sulfide	--	1	--	Effectuez l'étape sous hotte ou Autostainer d'échappement ventilé!
7	Rincez	L'eau du robinet courante	--	1	--	
8	Déshydratez	Alcool absolu, 3 changements	--	1	--	1 minute pour chaque changement.
9	Éclaircissez	Xylene ou remplaçant, 3 changements	--	1	--	1 minute pour chaque changement ou comme nécessité s'il on utilise une remplaçant de Xylene.
10	Faites une Lamelle	Milieu de montage permanent	--	--	--	

- Carson FL Hladik C: Histotechnology A Self Instructional Text, 2009, 318 – 320
- Modifications by AMTS Research & Development Department, 1979-2019.

## **PROCEDIMIENTO PARA KIT DE TINCIÓN EN ESPAÑOL**

**COMPONENTES INCLUIDOS:** Type 1 Buffer, Type 1 & 2C Buffer, Alkaline Buffer Stock, ATP Powder, Calcium Chloride Solution, Cobalt Chloride Solution, 1N Sodium Hydroxide, 1N Hydrochloric Acid. No incluido: Ammonium Sulfide.

**CRITERIOS DE MUESTRAS:** Un mínimo de tres, fresca, 12 micras secciones de tejido muscular serializados no fijadas, debidamente preparados y congelados. Después de preparar tampones e inmediatamente antes de comenzar el procedimiento de tinción, permiten secciones congeladas se caliente a la temperatura ambiente hasta por un máximo de cinco minutos.

**PRINCIPIO Y RESULTADOS:** Este kit está diseñado para ser utilizado por profesionales de laboratorio para teñir secciones congeladas preparadas de forma rutinaria (in vitro) para identificar y diferenciar los tipos de músculos. Tipo 1 Buffer mancha pequeñas fibras tipo 1 y tipo 2C negro fibras gris. Tipos 1 y 2 AC Buffer mancha pequeña de tipo 1 fibras negras, 2B y 2C fibras de color gris a negro. Escriba 2AB Buffer tipo de manchas 2A y 2B fibras negro

**NOTAS SOBRE ALMACENAMIENTO Y USO:** Para su uso por profesionales de laboratorio. Sensible y debidamente calibrado del medidor de pH se requiere para el búfer y los preparativos Soluciones de trabajo. Las soluciones diluidas de ajuste hidróxido de sodio o ácido clorhídrico de pH con agua destilada o DI si es necesario para conseguir un pH adecuado de las soluciones de trabajo. Ver SDS para las advertencias completas, precauciones de peligro y consejos de prudencia, e información disposición.

**LA PRÉPARATION DE TYPE 1 BUFFER:** Préparez la solution au moment de l'emploi. Solución expira después de 8 horas o fuera de rango de pH.

#	Acción	Cantidad	Químico/Reactivo	Detalles
1	Añadir	20ml	Type 1 Buffer	En un recipiente químicamente limpio o una vasija de plástico nueva/sin uso.
2	pH	Gotas	1N Hydrochloric Acid (para bajar el pH) o 1N Sodium Hydroxide (para elevar el pH)	El pH debe estar entre 4,25 y 4,35 (4,30 es ideal).

**LA PRÉPARATION DE TYPE 1&2BC BUFFER:** Préparez la solution au moment de l'emploi. Solución expira después de 8 horas o fuera de rango de pH.

#	Acción	Cantidad	Químico/Reactivo	Detalles
1	Añadir	20ml	Type 1&2BC Buffer	En un recipiente químicamente limpio o una vasija de plástico nueva/sin uso.
2	pH	Gotas	1N Hydrochloric Acid (para bajar el pH) o 1N Sodium Hydroxide (para elevar el pH)	El pH debe estar entre 4,55 y 4,65 (4,60 es ideal).

**LA PRÉPARATION DE TYPE 2AB BUFFER:** Préparez la solution au moment de l'emploi. Solución expira después de 90 minutos, dos usos, o fuera de rango de pH.

#	Acción	Cantidad	Químico/Reactivo	Detalles
1	Añadir	20ml	Alkaline Buffer Stock	En un recipiente químicamente limpio o una vasija de plástico nueva/sin uso.
2	pH	Gotas	1N Hydrochloric Acid (para bajar el pH) o 1N Sodium Hydroxide (para elevar el pH)	A partir de pH debe ser 10,45 para permitir la caída de pH natural durante el procedimiento. Si dos usos para el regreso a la espalda, re-pH a 10.45 antes de la segunda tanda de diapositivas.

**LA PRÉPARATION DE LA SOLUCIÓN DE ATPase INCUBATION:** Préparez la solution au moment de l'emploi. Solución expira después de 90 minutos, dos usos, o fuera de rango de pH.

#	Acción	Cantidad	Químico/Reactivo	Detalles
1	Añadir	20ml	Alkaline Buffer Stock	En un recipiente químicamente limpio o una vasija de plástico nueva/sin uso.
2	Añadir	32mg	ATP Powder	Mezcle completamente.
3	pH	Gotas	1N Hydrochloric Acid (para bajar el pH) o 1N Sodium Hydroxide (para elevar el pH)	A partir de pH debe ser 9,45 para permitir la caída de pH natural durante el procedimiento. Si dos usos para el regreso a la espalda, re-pH a 9.45 antes de la segunda tanda de diapositivas.

1. Carson FL Hladik C: Histotechnology A Self Instructional Text, 2009, 318 – 320
2. Modifications by AMTS Research & Development Department, 1979-2019.

**LA PRÉPARATION DE 1% AMMONIUM SULFIDE:** Préparez la solution au moment de su uso en campana de humos. Solution expire après une seule utilisation.

#	Acción	Cantidad	Químico/Reactivo	Detalles
1	Añadir	200uL	Concentrado Ammonium Sulfide ( <i>no incluido</i> )	En un recipiente químicamente limpio o una vasija de plástico nueva/sin uso.
2	Añadir	20ml	Agua Destilada/DI	Mezcle completamente.

### PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN:

 El color de pasos coordinados denota baños de tinción que pueden ser reutilizados durante la configuración de tinción automática.

#	Acción	Con	Tª °C	Tiempo		Detalles	
				min	s		
1	Sumerga tres diapositivas-seccionada de serie separados, debidamente etiquetados de forma simultánea en búferes separados como se muestra a continuación.						
1a	Diapositiva 1, según la etiqueta: "Type 1 (4.3)"						
	Sumerja	Type 1 Buffer	--	20	--	Una vez terminado, continúe con el paso 2.	
1b	Diapositiva 1, según la etiqueta: "Type 1&2BC (4.6)"						
	Sumerja	Type 1&2BC Buffer	--	20	--	Una vez terminado, continúe con el paso 2.	
1c	Diapositiva 1, según la etiqueta:						
	Sumerja	Type 2AB Buffer	--	20	--	Una vez terminado, continúe con el paso 2.	
2	Enjuague		Corriente de agua DI (Desionizada)	--	1	--	
3	Sumerja		Solución de ATPase Incubation	37°	→	→	Diapositiva 1 "Type 1 (4.3)" →45 minutos. Diapositiva 2 "Type 1&2BC (4.6)" →30 minutos. Diapositiva 3 "Type 2AB (10.4)" →10 minutos. Una vez finalizado el tiempo de cada diapositiva, no enjuague y continúe con el paso 4.
4	Sumerja		Solución de Calcium Chloride	--	3	--	Sin enjuagar siga al siguiente paso.
5	Sumerja		Solución de Cobalt Chloride	--	3	--	Una vez terminado, <b>enjuague con corriente de agua DI (1 minuto)</b> y continúe. Si el baño en el paso 2 no cambia durante al menos una vez por minuto, use un baño distinto.
6	Sumerja		1% Ammonium Sulfide	--	1	--	Realice el paso bajo campana de extracción del sistema de tinción automática de escape de ventilación!
7	Enjuague		Corriente de agua grifo	--	1	--	
8	Deshidrate		Alcohol absoluto, 3 cambios	--	1	--	1 minuto cada cambio.
9	Clarifique		Xileno o sustituto, 3 cambios	--	1	--	1 minuto cada cambio o según sea necesario si se utiliza un sustituto de xileno.
10	Cubreobjetos		Medios de montaje permanente	--	--	--	

- Carson FL Hladik C: Histotechnology A Self Instructional Text, 2009, 318 – 320
- Modifications by AMTS Research & Development Department, 1979-2019.