

乙酰胆碱酯酶（AChE）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1094

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：新鲜血清（浆）、动物组织、神经细胞

产品简介

乙酰胆碱酯酶（AChE）属于丝氨酸水解酶，广泛存在于各种动物组织和血清中。AChE 催化乙酰胆碱（Ach）水解，在神经传导调节中起重要作用。本试剂盒提供了一种简便的检测方法可检测生物体内 AChE 活性，其原理是：AChE 催化 Ach 水解生成胆碱，胆碱与二硫对硝基苯甲酸（DTNB）作用生成 5-巯基-硝基苯甲酸（TNB）；TNB 在 412nm 处有吸收峰，通过测定 412nm 吸光度增加速率，计算 AChE 活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
反应缓冲液	8mL	16mL	4℃保存
显色物	0.65mL	1.3mL	4℃避光保存
底物	0.65mL	1.3mL	4℃避光保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 412nm 处的吸光度）

恒温箱、制冰机、低温离心机

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

反应缓冲液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

显色物：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

底物：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

工作液的配制：每孔配制 180 μL 工作液：吸取 160 μL 反应缓冲液，10μL 显色物，10μL 底物。工作液需现配现用，根据需要测定的样本数按比例配制。

样本制备

1. 动物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，8,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

2. 细胞：收集 500 万细胞到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 8,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

3. 新鲜血清（浆）等液体样本：直接测定。

产品说明书

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存1个月。对于脂肪含量较高的动物组织，离心后移除上层脂肪，再取上清液。如需测定蛋白浓度，推荐使用BCA法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热30min以上，调节波长到412nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 恒温箱预热到37℃，工作液置于恒温箱中预热30min。
3. 在96孔板或微量玻璃比色皿中依次加入20μL样本，180μL工作液，迅速混匀，37℃孵育3min（可使用酶标仪的温度设置功能，若酶标仪没有温度设置功能可以使用恒温箱），于412nm处测定3min内吸光值变化。第20s吸光值记为A₁，第200s吸光值记为A₂。ΔA=A₂-A₁。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果ΔA小于0.002可适当加大样本量。如果ΔA大于0.8，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

A. 使用96孔板测定的计算公式

1. 动物组织AchE活性

(1) 按照蛋白浓度计算

活性单位定义：每毫克蛋白在反应体系中每分钟催化产生1nmol TNB的酶量为1个酶活单位。

$$\text{AchE 酶活 (U/mg prot)} = (\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反应}} \times 10^9) \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 490 \times \Delta A \div \text{Cpr} \times n$$

(2) 按照样本质量计算

活性单位定义：每克组织在反应体系中每分钟催化产生1nmol TNB的酶量为1个酶活单位。

$$\text{AchE 酶活 (U/g 鲜重)} = (\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反应}} \times 10^9) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 490 \times \Delta A \div W \times n$$

2. 细胞AchE活性

活性单位定义：每10⁴个细胞在反应体系中每分钟催化产生1nmol TNB的酶量为1个酶活单位。

$$\text{AchE 酶活 (U/10}^4 \text{ cells)} = (\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反应}} \times 10^9) \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 490 \times \Delta A \div 500 = 0.98 \times \Delta A \times n$$

3. 血清(浆)等液体样本AchE活性

活性单位定义：每毫升样本在反应体系中每分钟催化产生1nmol TNB的酶量为1个酶活单位。

$$\text{AchE 酶活 (U/mL)} = (\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反应}} \times 10^9) \div V_{\text{样}} \div T = 490 \times \Delta A \times n$$

ε：TNB摩尔消光系数，13.6×10³L/mol/cm；d：96孔板光径，0.5cm；V_{反应}：反应体系总体积，L，200μL=2×10⁻⁴L；10⁹：1mol=1×10⁹nmol；Cpr：蛋白浓度，mg/mL；V_样：加入上清液体积，0.02mL；T：反应时间，3min；n：样本稀释倍数；W：样品质量，g；V_{样总}：提取液体积，1mL；500：细胞总数，500万。

B. 使用微量玻璃比色皿进行测定的计算公式

将上述计算公式中光径d：0.5cm调整为d：1cm进行计算即可。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1096 碱性磷酸酶 (AKP/ALP) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1000 NAD 激酶 (NADK) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1004 NADH 氧化酶 (NOX) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

