

## 乙酰胆碱酯酶 (AChE) 检测试剂盒 (微量法)

货号: PMK1094

保存: 4°C 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°C 保存
反应缓冲液	8mL	16mL	4°C 保存
显色物	0.65mL	1.3mL	4°C 避光保存
底物	0.65mL	1.3mL	4°C 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°C 保存。

反应缓冲液: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

显色物: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 避光保存。

底物: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 避光保存。

工作液的配制: 每孔配制 180  $\mu$ L 工作液: 吸取 160  $\mu$ L 反应缓冲液, 10  $\mu$ L 显色物, 10  $\mu$ L 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°C 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°C 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A<sub>1</sub>，第200s吸光值记为A<sub>2</sub>。ΔA=A<sub>2</sub>-A<sub>1</sub>。

**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10<sup>4</sup>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，13.6×10<sup>3</sup>L/mol/cm；d：96孔板光径，0.5cm；V<sub>反应</sub>：反应体系总体积，L，200μL=2×10<sup>-4</sup>L；10<sup>9</sup>：1mol=1×10<sup>9</sup>nmol；Cpr：蛋白浓度，mg/mL；V<sub>样</sub>：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<sub>样总</sub>：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：

