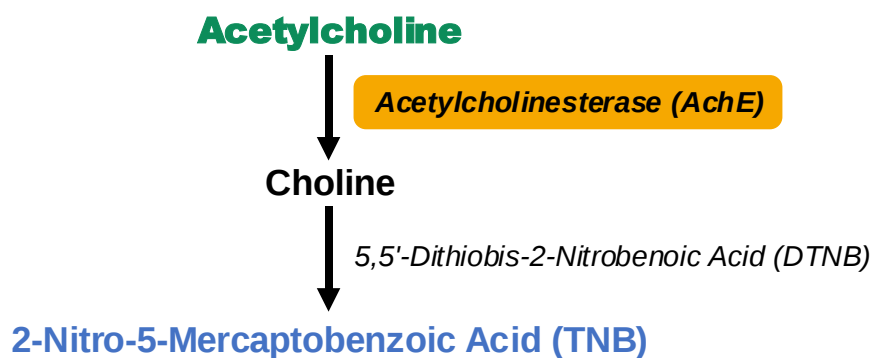




乙酰胆碱酯酶 (AChE) 活性检测试剂盒
Acetylcholinesterase (AChE) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



乙酰胆碱酯酶 (AChE) 活性检测试剂盒

Acetylcholinesterase (AChE) Activity Assay Kit

一、产品描述

乙酰胆碱酯酶 (AChE) 是一种主要存在于神经系统中的丝氨酸水解酶, 以多种变体形式广泛存在于各种动物组织和血清中, 可催化神经递质乙酰胆碱水解, 从而终止胆碱神经信号的传递, 在神经传导调节过程中起重要作用, 同时还具有诱导轴突生长和突触形成, 促进造血细胞形成等功能。

乙酰胆碱酯酶能够催化乙酰胆碱水解为胆碱, 胆碱与二硫对硝基苯甲酸反应生成 5-巯基-硝基苯甲酸 (TNB), 产物在 412 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征乙酰胆碱酯酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×3 瓶	4°C 避光保存	使用前每瓶加入 3 mL 试剂一充分溶解 (现用现配, 配制后 4°C 可保存 48 h)
试剂三	液体 6 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
试剂四	液体 3 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿 (光径 10 mm) /96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: (5-10) 的比例 (建议称取 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 按照细菌或细胞数量 (10^4 个): 提取液体积 (mL) 为 (500-1000): 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 300 W, 超声 3 s, 间隔 7 s, 总时间 3 min), 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

③血清 (浆)、培养液等液体样本: 直接测定或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 412 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)
粗酶液	15	15
试剂二	50	-
充分混匀，37°C准确反应 5 min		
试剂三	50	50
试剂二	-	50
12000 g 常温离心 5 min，取上清液		
在 96 孔板中依次加入下列试剂：		
上清液	10	10
试剂一	170	170
试剂四	20	20
充分混匀，室温显色 2 min		

吸光值测定：测定 412 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 对照，计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。注：每个样品均需设一个对照组。

3.乙酰胆碱酯酶（AChE）活性计算

3.1 使用 96 孔板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化生成 1 nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AChE (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{显色}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = \frac{4510 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化生成 1 nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AChE (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{显色}} \times V_{\text{样总}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = \frac{4510 \times \Delta A}{W}$$

③按照细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟催化生成 1 nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AChE (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{显色}} \times V_{\text{样总}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = \frac{4510 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟催化生成 1 nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AchE (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{显色}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = 4510 \times \Delta A$$

3.2 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化生成 1 nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AchE (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{显色}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = \frac{2255 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化生成 1 nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AchE (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{显色}} \times V_{\text{样总}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times W \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = \frac{2255 \times \Delta A}{W}$$

③按照细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟催化生成 1 nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AchE (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{显色}} \times V_{\text{样总}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = \frac{2255 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟催化生成 1 nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AchE (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{显色}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = 2255 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.015 mL；V 酶促：酶促反应总体积，0.115 mL；V 上清：上清液体积，0.01 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 显色：显色反应体系总体积，0.2 mL = 2×10^{-4} L； ϵ ：TNB 摩尔消光系数， 13.6×10^3 L/mol/cm； d_1 ：96 孔板光径，0.5 cm； d_2 ：微量玻璃比色皿光径，1 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间，5 min； 10^9 ：单位换算系数，1 mol = 1×10^9 nmol。

四、注意事项

- ①试剂二配制后有效期较短，为便于试验安排，附赠一瓶作为备用；
- ②测定过程中粗酶液和试剂二应置于冰上放置，以免变性和失活；
- ③若 A 测定大于 1.0 时，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；
- ④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

