



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

乙酰胆碱酯酶(AchE)活性检测试剂盒(微量法)

货号: R41980

规格: 100T/96S

有效期: 6个月

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液ES40	液体100ml×1瓶	2-8℃保存;
试剂-A	液体20ml×1瓶	2-8℃保存; 临用前置于37℃水浴中预热30min。
试剂-B	粉剂×1支	2-8℃保存; 临用前加入1.3mL 试剂-A,充分震荡溶解
试剂-C	粉剂×1支	2-8℃保存; 临用前加入1.3mL 试剂-A,充分震荡溶解

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

简介

意义: 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。Ach 催化乙酰胆碱(Ach)水解, 在神经传导调节中起重要作用。

原理: 乙酰胆碱酯酶催化 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 412 nm 吸光度增加速率, 计算乙酰胆碱酯酶活性。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、低温离心机、水浴锅、可调式移液枪、研钵/匀浆器和蒸馏水。

粗酶液提取:

1. 细菌、真菌或培养细胞: 按照细胞数量 (10^4 个): 提取液 ES40 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 提取液 ES40), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 8000g, 4℃, 离心 10min, 取上清置于冰上待测。



2. 组织: 按照组织质量(g): 提取液 ES40 体积(mL)为1: 5~10 的比例 (建议称取约0.1g 组织, 加入1mL 提取液 ES40), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

3. 血清等液体: 直接测定

测定步骤:

1. 分光光度计/酶标仪预热 30 min, 调节波长到 412 nm, 蒸馏水调零。

2. 试剂-A 置于 37℃水浴中预热 30min。

3. 取微量玻璃比色皿/96 孔板, 依次按下表加入:

试剂名称	对照管(ul)	测定管(ul)
蒸馏水	20	
试剂-A	160	
试剂-B	10	
试剂-C	10	
迅速混匀, 于412nm处测定3min内吸光值变化, 第10s吸光值记为A1,第 190s吸光值记为A2,△A空白管=A2-A1。		
样品上清液		20
试剂-A		160
试剂-B		10
试剂-C		10
迅速混匀, 于412nm处测定3min内吸光值变化, 第10s吸光值记为A3,第190s 吸光值记为A4,△A测定管=A4-A3。		

注意: 空白管只需测定 1-2次。

乙酰胆碱酯酶活性计算:

a. 使用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 组织 AchE 活性

(1) 按照蛋白浓度计算

活性单位定义: 每毫克蛋白每分钟催化产生 1nmol TNB 的酶量为 1 个酶活单位。

AchE 酶活(U/mg prot)=[(△A 测定管-△A 空白管)÷ε÷d×V 反总×10⁹]÷(Cpr×V 样)÷T



$$= 245 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \text{Cpr}$$

(2) 按照样本质量计算

活性单位定义: 每克组织每分钟催化产生 1nmol TNB 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{AchE 酶活(U/g)} = [(\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白}) \div \epsilon \div d \times V \text{ 反总} \times 10^9] \div (W \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T = 245 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div W$$

2. 细菌、真菌或培养细胞 AchE 活性

活性单位定义: 每 10^4 个细胞每分钟催化产生 1nmol TNB 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{AchE 酶活(U/10}^4 \text{ cell)} = [(\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白}) \div \epsilon \div d \times V \text{ 反总} \times 10^9] \div (\text{细胞数量} \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T = 245 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \text{细胞数量}$$

3. 血清 AchE 活性

活性单位定义: 每毫升血清每分钟催化产生 1nmol TNB 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{AchE 酶活(U/mL)} = [(\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \epsilon \div d \times V \text{ 反总} \times 10^9] \div V \text{ 样} \div T = 245 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \text{Cpr}$$

注: ϵ : TNB 摩尔消光系数, $13.6 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d : 比色皿光径, 1 cm; V 反总: 反应体系总体积 (L), $200 \mu\text{L} = 2 \times 10^{-4} \text{ L}$; V 样总: 提取液体积, 1 mL; 10^6 : $1 \text{ mol} = 1 \times 10^6 \mu\text{mol}$; Cpr: 蛋白浓度 (mg/mL); V 样: 加入上清液体积 (mL), 0.02 mL; W : 样品质量; T : 反应时间 (min), 3min。

b. 使用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 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。

$$\text{AchE 酶活(U/mg prot)} = [(\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \epsilon \div d \times V \text{ 反总} \times 10^9] \div (\text{Cpr} \times V \text{ 样}) \div T = 490 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \text{Cpr}$$

(2) 按照样本质量计算

活性单位定义: 每克组织每分钟催化产生 1nmol TNB 的酶量为 1 个酶活单位。



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

$$\text{AchE 酶活(U/g)} = [(\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白}) \div \epsilon \div d \times V \text{ 反总} \times 10^9] \div (W \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T = 490 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div W$$

2. 细菌、真菌或培养细胞 AchE 活性

活性单位定义: 每 10^4 个细胞每分钟催化产生 1nmol TNB 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{AchE 酶活(U/10}^4 \text{ cell)} = [(\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白}) \div \epsilon \div d \times V \text{ 反总} \times 10^9] \div (\text{细胞数量} \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T = 490 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \text{细胞数量}$$

3. 血清 AchE 活性

活性单位定义: 每毫升血清每分钟催化产生 1nmol TNB 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{AchE 酶活(U/mL)} = [(\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \epsilon \div d \times V \text{ 反总} \times 10^9] \div V \text{ 样} \div T = 490 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \text{Cpr}$$

注: ϵ : TNB 摩尔消光系数, $13.6 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d : 96 孔板光径, 0.5 cm;
 $V \text{ 反总}$: 反应体系总体积 (L), $200 \mu\text{L} = 2 \times 10^{-4} \text{ L}$; $V \text{ 样总}$: 提取液体积, 1 mL;
 10^6 : $1 \text{ mol} = 1 \times 10^6 \mu\text{mol}$; Cpr : 蛋白浓度 (mg/mL); $V \text{ 样}$: 加入上清液体积 (mL), 0.02 mL; W : 样品质量; T : 反应时间 (min), 3 min

注意事项:

1. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴乳胶手套操作。