



乙酰胆碱（ACH）测定试剂盒

微板法

货号: R45393-48S/96S

产品简介:

乙酰胆碱 (Ach) 是研究最早的神经递质, 是许多周围神经如运动神经、植物性神经系统节前纤维和副交感神经节后纤维的兴奋性神经递质。乙酰胆碱与底物液反应, 通过显色反应生成棕色化合物, 测定其吸光度 OD 值, 其颜色深浅与乙酰胆碱浓度成正比。

试剂盒的组成和配制:

试剂名称	R45393-48S	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂mg×1瓶	4℃保存	临用前甩几下使粉剂落入底部, 再向试剂中加入3mL蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体2.5mL×1瓶	4℃保存	
试剂三	液体2mL×1瓶	4℃保存	
试剂四	四A:mg×2支 四B:液体3mL×1瓶	4℃保存	临用前每支四A中加1.2mL的四B 溶解混匀后备用。
标准品	粉体mg×1支	4℃保存	若重新做标曲则用到该试剂。

试剂名称	R45393-96S	保存要求	备注
提取液	液体100mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂mg×1瓶	4℃保存	临用前甩几下使粉剂落入底部, 再向试剂中加入6mL蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体5mL×1瓶	4℃保存	
试剂三	液体4mL×1瓶	4℃保存	
试剂四	四A:mg×4支 四B:液体5mL×1瓶	4℃保存	临用前每支四A中加1.2mL的四B 溶解混匀后备用。
标准品	粉体mg×1支	4℃保存	若重新做标曲则用到该试剂。



混合液制备: 临用前将试剂一: 试剂二=1:1混合制成混合液备用。

所需的仪器和用品:

酶标仪、台式离心机、可调式移液器、96孔板、研钵、冰和蒸馏水。

乙酰胆碱(Ach) 含量测定:

建议正式实验前选取2个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

①组织样本: 取约0.1g 组织, 加入1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。
12000rpm, 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】:若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取。

②细菌或细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约500万细菌或细胞, 加入1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率20%或200W, 超声3s, 间隔10s, 重复30次); 12000 rpm, 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】:若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

③液体样本: 直接检测; 若浑浊, 离心后取上清检测。

2、上机检测:

①酶标仪预热30min, 调节波长到540 nm。

②所有试剂解冻至室温(25℃)。在EP管中依次加入:

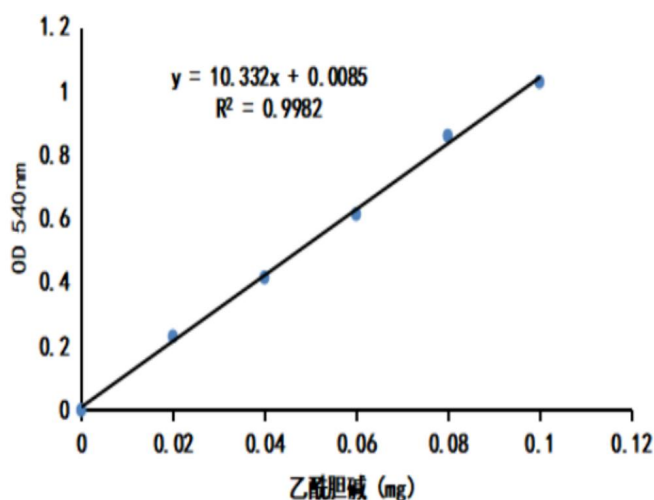
试剂名称(μL)	测定管	空白(仅做一次)
样本	50	
水	50	100
混合液	100	100
混匀, 室温孵育15min		
试剂三	40	40



试剂四	40	40
摇晃EP管，充分混匀2min后立即取200μl澄清液体(若浑浊可室温条件下于8000rpm离心5min)至96孔板中，于540nm处读值， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$		

结果计算:

1、标准曲线方程为 $y = 10.332x + 0.0085$; x为标准品质量 (mg), y为 ΔA 。



2、按照样本质量计算:

$$\text{乙酰胆碱含量(mg/g 重量)} = [(\Delta A - 0.0085) \div 10.332] \div (W \times V1 \div V) \times D$$

$$= 1.936 \times (\Delta A - 0.0085) \div W \times D$$

3、按细胞数量计算:

$$\text{乙酰胆碱含量}(\mu\text{g}/10^4\text{cell}) = [(\Delta A - 0.0085) \div 10.332 \times 10^3] \div (500 \times V1 \div V) \times D$$

$$= 1936 \times (\Delta A - 0.0085) \div 500 \times D$$

4、按液体体积计算:

$$\text{乙酰胆碱含量(mg/mL)} = [(\Delta A - 0.0085) \div 10.332] \div V1 \times D$$

$$= 1.936 \times (\Delta A - 0.0085) \times D$$

W-- 样品质量, g;

V---提取液体积, 1mL;

V1---上清液体积(mL), 0.05mL;



500---细胞数量, 万;

D---稀释倍数, 未稀释即为1;

附: 标准曲线制作过程:

- 1.标准品浓度(20mg/mL): 直接加入1mL 蒸馏水溶解成20mg/mL (现配现用, 两天内用完)。
- 2.把标准品用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品: 0,0.4,0.8,1.2,1.6,2mg/mL。
也可根据实际样本 来调整标准品浓度。
- 3.依据测定管加样体系, 于540nm 处测定; 根据结果即可制作标准曲线。



源叶