



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

乙酰胆碱酯酶活性的测定方法

1 酶活力单位的定义：

在 37℃, 0.1mol/L pH=8.0 磷酸缓冲液条件下, 每分钟分解 1umol 碘化硫代乙酰胆碱 (ATCI) 的酶量为一个乙酰胆碱酯酶活力单位。

2、试剂的配制:

①磷酸缓冲液: 用 0.1mol/L 的磷酸氢二钠 (Na_2HPO_4) 和磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 以适当比例混合, 得到 pH=8 的磷酸缓冲液。

②胆碱酯酶液: 根据酶活性情况用适量体积的磷酸缓冲液溶解。(一般 10mg 配 5ml 溶液)

③碘化硫代乙酰胆碱 (ATCI) 溶液: 取 10mg 溶于 2ml 上述 pH=8 的磷酸缓冲液中。

④二硫代双对硝基苯甲酸 (DTNB) 溶液: 取 10mg 溶于 2ml 上述 pH=8 的磷酸缓冲液中。

3、乙酰胆碱酯酶活性的测定步骤:

取 A、B 两只试管, 分别加入 0.1mol/L pH=8 磷酸缓冲液 3ml, 加入乙酰胆碱酯酶 50uL 和 DTNB 50uL, 置于 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 水浴 15min 后, 于 A 试管中加入 0.1mol/L pH=8 磷酸缓冲液 50uL, 作为标准液调零; B 试管中加入 ATCI 50uL, 混匀后立即倒入玻璃比色杯中比色, 记录 3min 前后的 A_{412} 值。每一酶液重复测定 3 次, 取 ΔA 的平均值。

酶力单位 (U) 的计算公式为:

$$U = \frac{\Delta A_{412} \times V}{\epsilon \times d \times T} \times 10^6$$

式中: ΔA_{412} 为反应前后吸光度的差值

V 为反应体系总体积, 本体系为 $3.15 \times 10^{-3}\text{L}$

ϵ 为黄色产物的摩尔吸光系数, 为 $1.36 \times 10^4 \text{L} \cdot (\text{mol} \cdot \text{cm})^{-1}$

T 为反应时间, 本法为 3min

10^6 为摩尔转化为微摩尔的转化系数

d 为比色皿宽度 (cm)

酶活力的计算过程比较复杂, 有时候活力的大小, 可简单用反应前后的吸光度之差 (ΔA) 来表征酶活力的大小, ΔA 值越大, 酶活力越大。