

Acetylcholinesterase Activity Assay Kit

乙酰胆碱酯酶(AChE)活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1843B	乙酰胆碱酯酶(AChE)活性检测试剂盒 微板法	96T

产品简介:

乙酰胆碱酯酶 (AChE, EC.3.1.1.7) 是生物体内保证神经信号正常传递的关键酶, 在神经传导调节中起重要作用。

乙酰胆碱酯酶催化乙酰胆碱 (AChE) 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 吸光度增加速率即可得出 AChE 酶活性大小。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	100mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	20mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉末×1 瓶	4°C保存	使用前甩几下使试剂落入底部, 再加 1.5mL 乙醇, 充分溶解备用。
试剂三	粉末×2 支	4°C保存	使用前甩几下使试剂落入底部, 每支再加 1.2mL 蒸馏水, 充分震荡溶解。

使用方法:

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!

一、样本准备

1. 组织样本:

- 称取约 0.1g 组织 (水分充足的样本可取 0.5g), 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;
- 12000rpm, 4°C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. 细胞/细菌样本:

- 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;
- 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次);
- 12000rpm 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样本:

直接检测; 若浑浊, 离心后取上清检测。

二、样品测定

- 酶标仪预热 30 min, 调节波长到 412 nm。
- 所有试剂可于 37°C水浴中孵育 20min 以上。
- 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	20

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



试剂一	150
试剂二	10
试剂三	20
混匀，37°C条件下反应，30s 时于 412nm 处读取吸光值 A1，5min30s 读取 A2， $\Delta A=A2-A1$ 。	

- 【注】1.加完试剂三反应即启动；若 A1 值大于 1 或 ΔA 大于 1，可减少样本体积 V1（如由 20 μ L 减至 10 μ L，则试剂一相应增加），或减少反应时间 T（如由 5min30s 减至 2min30s 读 A2），则改变后的 V1 和 T 重新代入公式计算。
- 2.若 ΔA 低于 0.01，可增加样本取样量 W（如 0.2g），或加大样本体积 V1（如由 20 μ L 增至 40 μ L，则试剂一相应减少），或延长反应时间 T（如由 5min30s 增至 15min30s 或更长读 A2），则改变后的 W 和 V1 和 T 重新代入公式计算。

三、结果计算

1. 按照蛋白浓度计算：

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

$$\text{AChE 酶活}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot})=(\Delta A \div \epsilon \div d \times V2 \times 10^9) \div (\text{Cpr} \times V1) \div T = 294.12 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按照样本质量计算：

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

$$\text{AChE 酶活}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重})=(\Delta A \div \epsilon \div d \times V2 \times 10^9) \div (W \times V1 \div V) \div T = 294.12 \times \Delta A \div W$$

3. 细菌、细胞 AchE 活性：

酶活定义：每 10⁴ 个细胞每分钟催化产生 1nmol TNB 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{AChE 酶活}(\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{ cell})=(\Delta A \div \epsilon \div d \times V2 \times 10^9) \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.6 \times \Delta A$$

4. 液体中 AchE 活性：

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

$$\text{AChE 酶活}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL})=(\Delta A \div \epsilon \div d \times V2 \times 10^9) \div V1 \div T = 294.12 \times \Delta A$$

ϵ ---TNB 摩尔消光系数，13.6 $\times 10^3$ L/mol/cm

V---提取液体积，1 mL

V2---反应体系总体积，200 μ L=2 $\times 10^{-4}$ L

Cpr---上清液蛋白质浓度，mg/mL

500---细菌或细胞数量，万

d---96 孔板光径，0.5 cm

V1---加入上清液体积，0.02 mL

T---反应时间，5min

W---样本质量，g

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4°C保存六个月。

