

乙酰胆碱酯酶 (AChE) 活性检测试剂盒 (分光光度计法)
(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0361	乙酰胆碱酯酶 (AChE) 活性检测试剂盒	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体×1 瓶	4°C
试剂二	液体×1 瓶	4°C
试剂三	粉剂×1 瓶: 临用前加入 2.6mL 试剂一, 充分震荡溶解。	4°C
试剂四	粉剂×1 瓶: 临用前加入 2.6mL 试剂一, 充分震荡溶解。	4°C

一、产品说明

AChE 属于丝氨酸水解酶, 广泛存在于各种动物组织和血清中。AChE 催化乙酰胆碱(Ach) 水解, 在神经传导调节中起重要作用。

AChE 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 AChE 活性。

二、自备材料

可见分光光度计、低温离心机、水浴锅、可调式移液枪、1mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

三、样品制备

- 1、组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液), 进行冰浴匀浆。8000g 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 2、细胞/细菌: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌/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 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); 8000g 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 3、血清 (浆) 样品: 直接检测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计预热 30 min, 调节波长到 412 nm, 蒸馏水调零。
- 2、试剂二置于 37°C水浴中预热 30min。
- 3、空白管: 取 1mL 玻璃比色皿, 依次加入 100 μ L 蒸馏水、800 μ L 试剂一、50 μ L 试剂二和 50 μ L 试剂三, 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。注: 空白管只需测定一次。
- 4、测定管: 取 1mL 玻璃比色皿, 依次加入 100 μ L 上清液、800 μ L 试剂一、50 μ L 试剂二和 50 μ L 试剂三, 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。

五、AChE 活性的计算

1、按照组织蛋白浓度计算:

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。

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

需要另外测定, 建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

2、按照样本鲜重计算:

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。

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

3、按照细胞/细菌数量计算:

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。

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

4、血清/血浆中 MDA 含量的计算:

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。

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

ϵ : TNB 摩尔消光系数, $13.6 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; V 反总: 反应体系总体积 (L), $1 \text{ mL} = 0.001 \text{ L}$;
 10^6 : $1 \text{ mol} = 1 \times 10^6 \mu\text{mol}$; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; Cpr: 蛋白浓度 (mg/mL);
W: 样本质量, g; V 样: 加入上清液体积 (mL), 0.1 mL; T: 反应时间 (min), 3 min。