

乙酰胆碱酯酶(AchE)试剂盒

- 【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412nm吸光度增加速率即可得出AChE酶活性大小。

【货号】 TMC021

【规格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	
提取液	液体100mL×1瓶	4℃	
试剂一	液体20mL×1瓶	4℃	
试剂二	粉剂mg×1支	4℃	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	粉剂mg×2支	4℃	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。

【保存条件】 4℃保存, 有效期一年。

【操作步骤】 1、样本制备:

①组织样本:

称取约0.1g组织加入研钵中, 加入1mL提取液, 进行冰浴匀浆, 12000rpm, 4℃离心10min, 取上清液, 置冰上待测。

注: 也可以按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例提取。

②细菌/真菌样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心弃上清; 取500万细菌或细胞加入1mL提取液; 冰浴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); 12000rpm, 4℃离心10min, 取上清液, 置冰上待测。

注: 也可按照细菌或细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

③液体样本: 直接检测, 若浑浊则离心后取上清检测。

2、上机检测：

①酶标仪预热30min以上，调节波长到412nm。

②所有试剂可于37℃水浴中孵育20min以上。在96孔板中依次加入：

试剂名称(uL)	测定管
样本	20
试剂一	150
试剂二	10
试剂三	20
混匀，37℃条件下反应，30s时于412nm处读取吸光值A1，5min30s读取 A2， $\Delta A=A2-A1$ 。	

3、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。

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

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。

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

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。

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

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。

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

ϵ ——TNB摩尔消光系数，13.6×10³L/mol/cm；

d——96 孔板光径，0.5 cm；

V——提取液体积，1 mL；

V1——加入上清液体积，0.02 mL；

V2——反应体系总体积，200uL=2×10⁻⁴L；

T——反应时间，5min；

W——样本取样质量，g；

500——细菌或细胞数量，万；

Cpr——蛋白浓度(mg/mL)盒。

【注意事项】

1、测定过程中提取试剂应在冰上放置，建议样品提取完成后当天完成活性检测。

2. 若 A 测定大于 1.0，建议将样本提取液稀释后测定，若小于 0.02，建议制备更高浓度的样本适当延长每次反应。

3、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。

4、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
