

## 乙酰胆碱转移酶（ChAT）活性试剂盒

**【产品简介】** ◆乙酰胆碱转移酶 (Choline acetyltransferase ChAT, EC 2.3.1.6) 是乙酰胆碱ACh的合成酶，调节ACh的代谢。ACh是调节食道平滑肌运动的主要的兴奋性神经递质。

◆ChAT的测定是以乙酰辅酶A和胆碱为底物，在ChAT的作用下，反应的生成乙酰胆碱和辅酶A，该产物和显色剂反应于412nm处有吸收峰，进而计算出ChAT的活力。

酶催化反应方程式： $\text{acetyl-CoA} + \text{choline} = \text{CoA} + \text{O-acetylcholine}$ 。

**【货号】** TMC022

**【规格】** 96T

**【包装清单】**

| 试剂名称 | 规格        | 保存条件 |                                            |
|------|-----------|------|--------------------------------------------|
| 提取液  | 液体60mL×1瓶 | 4℃   |                                            |
| 试剂一  | 粉剂mg×1支   | -20℃ | 临用前甩几下或离心使粉剂落入底部，再加1.2mL蒸馏水溶解备用，可-20℃分装冻存。 |
| 试剂二  | 粉体mg×1支   | 4℃   | 临用前甩几下或离心使粉剂落入底部，再加2.3mL蒸馏水溶解备用，20℃保存。     |
| 试剂三  | 液体12mL×1瓶 | 4℃   |                                            |
| 试剂四  | 液体4mL×1瓶  | 4℃   | 若凝固，可在25℃水浴温育片刻至全部融解后使用。                   |
| 标准品  | 粉体1mg×1支  | 4℃   | 若重新做标曲，则用到该试剂。                             |

**【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所有试剂解冻至室温(25℃)或于水浴锅(25℃)孵育15-30min 左右。

③在96孔板中依次加入:

| 试剂名称(uL)                                                                            | 测定管 | 对照管 |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 样本                                                                                  | 20  | 20  |
| 试剂一                                                                                 | 20  |     |
| 试剂二                                                                                 | 20  | 20  |
| 试剂三                                                                                 | 100 | 120 |
| 混匀, 37℃孵育30min                                                                      |     |     |
| 试剂四                                                                                 | 40  | 40  |
| 混匀, 静置5min, 于412nm处读取吸光值, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本做一个自身对照)。 |     |     |

④标准曲线结果计算①由标准品测定获得, 如需重制见随货说明书或咨询。

## 3、结果计算:

①标准曲线方程为 $y = 0.0434x - 0.0161$ ;  $x$ 为标准品摩尔质量(nmol),  $y$ 为 $\Delta A$ 。

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 辅酶A定义为一个酶活力单位。

$$\text{ChAT活性 (nmol/min/g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.0161) \div 0.0434] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D \\ = 38.4 \times (\Delta A + 0.0161) \div W \times D$$

③按照样本蛋白浓度计算:

酶活定义:每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1nmol辅酶 A 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ChAT活性 (nmol/min/mg prot)} = [(\Delta A + 0.0161) \div 0.0434] \div (Cpr \times V1) \div T \times D \\ = 38.4 \times (\Delta A + 0.0161) \div Cpr \times D$$

④按细胞数量计算:

酶活定义:每 1万个细菌或细胞每分钟催化产生1nmol辅酶 A 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ChAT活性 (nmol/min/10}^4\text{cell)} = [(\Delta A + 0.0161) \div 0.0434] \div (500 \times V1 \div V) \div T \times D \\ = 38.4 \times (\Delta A + 0.0161) \div 500 \times D$$

⑤按液体体积计算:

酶活定义:每毫升液体每分钟催化产生 1nmol辅酶 A定义为一个酶活力单位。

$$\text{ChAT活性 (nmol/min/mL)} = [(\Delta A + 0.0161) \div 0.0434] \div V1 \div T \times D \\ = 38.4 \times (\Delta A + 0.0161) \times D$$

W---样品质量, g;

V---提取液体积, 1 mL;

V1---上清液体积(mL), 0.02mL;

T--反应时间, 30 min;

500——细胞数量，万；                      D——稀释倍数，未稀释即为 1；  
辅酶 A 的分子量——Mr=767.53；  
Cpr——上清液蛋白质浓度，mg/mL。

- 【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。
-