

# 乙酰胆碱酯酶 (AChE) 检测试剂盒

(货号: BC044 比色法)

## 一、测定意义及原理

乙酰胆碱酯酶 (Acetyl choline esterase; 水解乙酸胆碱生成胆碱及乙酸.胆碱可以与巯基显色剂反应生成 TNB (对称三硝基苯. Sym-Trinitrobenzene) 黄色化合物, 根据颜色深浅进行比色定量, 水解产物胆碱的数量可反应胆碱酯酶的活力。

## 二、试剂组成及配制 (50T)

试剂组成	规格	组份	浓度	保存条件
试剂一	3 瓶	标准品, 粉剂		4°C 保存 6 个月
1 $\mu$ mol/ml 标准品应用液配制: 取标准品一支加生理盐水 10ml 混匀.现用现配。				
试剂二	2 瓶	底物, 粉剂		4°C 保存 6 个月
底物缓冲液配制, 用时每支粉剂加生理盐水 20ml, 制备成底物缓冲液, 4°C 保存两周				
试剂三	3ml*1 瓶	显色剂贮备液		4°C 保存 6 个月
显色应用液配制: 用时按照显色剂贮备液: 生理盐水=1 : 9 稀释.配成显色应用液。按需配制, 也可一次配制 30ml, 避光冷藏 3 个月。				
试剂四	2ml*1 瓶	抑制剂, 液体		室温保存 6 个月
需要打开后装在空的小塑料瓶内 (附空瓶一只)				
试剂五	6ml*1 瓶	透明剂, 液体		室温保存 6 个月
天冷时会有沉淀或混浊, 须在 37°C 水浴加热至透明后, 方可使用。				
试剂六	60ml*2 瓶	生理盐水, 液体		室温保存 6 个月

## 三、操作过程:

### 1、样本处理:

①血清(浆): 直接测定, 如超过线性范围用生理盐水稀释后测定。

②培养液样本: 吸取培养液, 1000 转/分钟, 离心 10 分钟, 取上清测定。

[注]: 一般建议细胞密度在 100 万个/mL 以上。

③组织样本: 准确称取组织重量,按重量(g): 体积(mL)=1:9 的比例, 加入 9 倍体积的匀浆介质, 冰水浴条件下机械匀浆, 2500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清液待测。

[注]:

1、如组织样本为非高脂样本, 匀浆介质统一用磷酸盐缓冲液(0.1mol/L pH 7.4)或生理盐水进行提取。

2、如组织样本为高脂样本或部分为高脂样本, 匀浆介质可统一用无水乙醇进行提取。

④细胞样本:

A、细胞收集: 将制备好的细胞悬液取出 1000 转/分, 离心 10 分钟, 弃上清液, 留细胞沉淀; 用等渗缓冲液 (推荐 0.1mol/L、PH7~7.4 磷酸盐缓冲液) 清洗 1~2 次, 同样 1000 转/分钟, 离心 10min, 弃上清液, 留细胞沉淀;



B、细胞破碎:加入 0.2~0.3mL 的匀浆介质(推荐 0.1mol/L、PH7~7.4 磷酸盐缓冲液或生理盐水) 进行匀浆, 冰水浴条件下超声破碎(功率:300W, 3~5 秒/次, 间隔 30 秒, 重复 3~5 次)或手动匀浆, 制备好的匀浆液不离心直接测定。也可采用裂解液裂解(推荐 TritonX-100, 1~2%, 裂解液 30~40 分钟), 裂解好的液体不离心直接测定。

[注]: 一般建议细胞密度在 100 万个/mL 以上。破碎好的液体可显微镜观察细胞是否破碎完全

2、操作表:

	测定管	对照管	标准管	空白管
样本 (ml)	a*			
1 μmol/L 标准品应用液 (ml)			a*	
双蒸水 (ml)				a*
底物缓冲液 (ml)	0.5	0.5	0.5	0.5
显色应用液 (ml)	0.5	0.5	0.5	0.5
混匀, 37℃准确反应 6 分钟				
抑制剂 (ml)	0.03	0.03	0.03	0.03
透明剂 (ml)	0.1	0.1	0.1	0.1
样本 (ml)		a*		
混匀, 静置 15 分钟, 412nm 比色 (0.5cm 光径), 双蒸水调零, 测各管 OD 值				

注: a\*所表示所取的样品量、标准品量、双蒸水的量, 三者均相等:

- ①、血清 (浆) 测试前用生理盐水 10 倍稀释, 参考取样量为 30 ~ 50μl。
- ②、10%脑组织匀浆的参考取样量为 30 ~ 50μl。
- ③、1 : 99 稀释后的全血稀释液取 0.1ml, 取样前每只要摇匀。

四、计算公式:

(一)、组织匀浆中乙酰胆碱酯酶的计算:

1、单位定义: 每毫克组织蛋白在 37℃保温 6 分钟, 水解反应体系中 1μmol 基质为 1 个活力单位。

$$\text{组织匀浆中 AChE 活力 (U/mgprot)} = \frac{\text{测定OD值}-\text{对照OD值}}{\text{标准品OD值}-\text{空白OD值}} \times \frac{\text{标准品浓度 (1}\mu\text{mol/ml)}}{\text{待测样品蛋白浓度 (mgprot/ml)}}$$

(二)、血清中乙酰胆碱酯酶的计算:

1、单位定义: 每毫升血清样本在 37℃保温 6 分钟, 水解反应体系中 1μmol 基质为 1 个活力单位。

$$\text{血清 (浆) 中 AChE 活力 (U/ml)} = \frac{\text{测定OD值}-\text{对照OD值}}{\text{标准品OD值}-\text{空白OD值}} \times \frac{\text{标准品浓度 (1}\mu\text{mol/ml)}}{\text{样本测试前稀释倍数}}$$

(三)、全血中乙酰胆碱酯酶的计算:

1、单位定义; 每毫升全血在 37℃保温 6 分钟, 水解反应体系中 1μmol 基质为 1 个活力单位。

$$\text{全血中 AChE 活力 (U/ml)} = \frac{\text{测定OD值}-\text{对照OD值}}{\text{标准品OD值}-\text{空白OD值}} \times \frac{\text{标准品浓度 (1}\mu\text{mol/ml)}}{\text{样本测试前稀释倍数}}$$





ELK Biotechnology

Tel:+86-027-59760950 Website: [www.elkbiotech.cn](http://www.elkbiotech.cn)

全血样本：取 0.1ml 抗凝全血加双蒸水至 10ml，即按 1：99 稀释，充分混匀。如果您的样本量很少，可以减少取样量。例如取 0.01ml 或 0.02ml 抗凝全血加双蒸水至 1ml 或 2ml。取 a ml（一般为 0.1ml）进行检测，每个样本取样前必须充分混匀。

Address: No. 388, Gaoxin 2nd Road, East Lake Hi-tech Development Zone, Wuhan, China

