Acetylcholinesterase Activity Assay Kit

乙酰胆碱酯酶（AChE）活性测定试剂盒说明书

货号：BN72662 | 方法：微板法 | 规格：96 样

一、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。

二、试剂盒组成和配置：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂 mg×1 支	4℃保存	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℃保存	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。

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、低温离心机、水浴锅、可调式移液枪。

四、乙酰胆碱酯酶（AChE）活性测定：

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！

1、样本制备：

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。4℃×12000rpm 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 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 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 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（10^4）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

③ 液体样本：直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30 min，调节波长到 412 nm。

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（μL）	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，△A=A2-A1。	

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、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。

AChE 酶活(nmol/min/mg prot)=(△A÷ε÷d×V2×10^9)÷(Cpr×V1)÷T=294.12×△A÷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。

AChE 酶活(nmol/min/g 鲜重)=(△A÷ε÷d×V2×10^9)÷(W×V1÷V)÷T=294.12×△A÷W

3. 细菌、细胞 AchE 活性：

酶活定义：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。

AChE 酶活(nmol/min/10^4 cell)=(△A÷ε÷d×V2×10^9)÷(500×V1÷V)÷T=0.6×△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。

AChE 酶活(nmol/min /mL)=(△A÷ε÷d×V2×10^9)÷V1÷T=294.12×△A

ε---TNB 摩尔消光系数，13.6×10^3 L/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，200μL=2×10^{-4}L；　　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）；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。