

乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AchE) 活性测定试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

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。

测定原理：

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。

组成：

产品名称	ES001-50T/48S	Storage
提取液：液体	1 瓶	4°C
试剂一：液体	1 瓶	4°C
试剂二：粉剂	1 瓶	4°C
试剂三：粉剂	1 瓶	4°C
说明书	一份	

试剂二：粉剂×1 瓶，4°C 保存。临用前加入 2.6ml 试剂一，充分震荡溶解。

试剂三：粉剂×1 瓶，4°C 保存。临用前加入 2.6ml 试剂一，充分震荡溶解。

自备仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1 ml 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

粗酶液提取：

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，取上清液待测。
2. 细菌、真菌：按照细胞数量 (10^4 个)：试剂一体积 (ml) 为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1ml 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；然后 8000g，4°C，离心 10min，取上清置于冰上待测。
3. 血清等液体：直接测定。

测定操作：

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



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. 取 1ml 玻璃比色皿, 依次加入 **100μl 上清液**、800 μl 试剂一、50μl 试剂二和 50 μl 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。ΔA 测定管=A2-A1。

AchE 活性计算公式:

1. 组织 AchE 活性

(1) 按照蛋白浓度计算

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。

$$\text{AchE 酶活}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = (\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9) \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T \\ = 245 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按照样本质量计算

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。

$$\text{AchE 酶活}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = (\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ = 245 \times \Delta A \div W$$

2. 细菌、细胞 AchE 活性

活性单位定义: 每 10⁴ 个细胞每分钟催化产生 1nmol TNB 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{AchE 酶活}(\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) = (\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9) \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ = 245 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

3. 血清 AchE 活性

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。

$$\text{AchE 酶活}(\text{nmol}/\text{min}/\text{ml}) = (\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9) \div V_{\text{样}} \div T \\ = 245 \times \Delta A$$

ε: TNB 摩尔消光系数, 13.6×10³ L/mol/cm; V 反总: 反应体系总体积(L), 1 ml=0.001 L; 10⁶: 1mol=1×10⁶μmol;
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。

