

## 乙酰胆碱酯酶染色液(亚铁氰化铜法)

### 简介:

胆碱酯酶(cholinesterase, ChE)属于特异性酯酶,可分为两大类。一类是乙酰胆碱酯(Acetylcholinesterase, AChE)又称为真性胆碱酯酶,能水解乙酰胆碱,起到生理的调节作用;另一类为胆碱酯酶,又称假性胆碱酯酶(Pseudocholinesterase, PsChE),能水解胆碱的酯而不能水解乙酰胆碱酯。乙酰胆碱酯酶主要存在于神经元的胞质内、神经肌肉接头处即所谓运动终板处;PsChE主要存在于血浆、胰腺、唾液腺内,生理功能尚不明确。乙酰胆碱酯酶染色液(亚铁氰化铜法)属于Karnovsky和Roots法,其染色原理是乙酰胆碱酯酶水解碘化乙酰硫代胆碱,释放乙酸和硫代胆碱。硫代胆碱中的硫氢基(-SH)把铁氰化钾还原为亚铁氰化钾,后者与铜离子结合形成不溶性的红棕色至深棕色的亚铁氰化铜沉淀在酶活性部位而显示出来。其优点是操作简便、酯酶的扩散较少,其缺点是对底物对组织的渗透性较差。该染色液可用于观察中枢神经和周围神经纤维等疾病情况下的改变,亦有利于巨结肠症、肠神经元发育异常的诊断。有机农药中毒时可使该酶受到抑制,酶的活性下降而呈阴性反应。

### 组成:

产品名称		SE005-10ml×2	SE005-20ml×2	Storage
试剂(A):AChE 孵育液	A1: AChE Iodide	5mg	10mg	4℃ 避光
	A2: AChE Buffer A	1ml	2ml	RT
	A3: AChE Buffer B	7ml	14ml	4℃ 避光
	A4: AChE Buffer C	1ml	2ml	4℃ 避光
	A5: AChE Buffer D	1ml	2ml	4℃ 避光
	A6: Iso-OMPA	0.2ml	0.4ml	-20℃ 避光
试剂(B): 苏木素染色液		10ml	20ml	4℃ 避光
试剂(C): AChE-Che 抑制剂		0.2ml	0.4ml	4℃ 避光
说明书		一份		

### 自备材料:

- 1、10%甲醛钙固定液
- 2、恒温培养箱
- 3、光学显微镜

### 操作步骤(仅供参考):

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、冰冻切片，厚 6 $\mu$ m，不固定或置于遇冷的 10%甲醛钙固定 10min。
- 2、蒸馏水洗 3 次，每次 1min。
- 3、配制 AChE 孵育液：临用前，取 A2 加入至 A1 中，使后者完全溶解，即为 A12 混合液，4 $^{\circ}$ C 保存。取适量的 A12 混合液、A3、A4、A5、A6，按 A12 混合液:A3:A4:A5:A6=1:7:1:1:0.2 充分混合，即为 AChE 孵育液，6h 内使用。
- 注意：如果想显示 AChE 和 ChE，即无需区分 AChE 和 ChE，无需加入 Iso-OMPA。
- 4、切片入预温的 AChE 孵育液中，37 $^{\circ}$ C 避光孵育 1~3h(一般不超过 6h)，至切片呈淡棕色时取出。
- 5、蒸馏水洗，镜下观察如活性部位仍较淡，可于蒸馏水洗后再进行孵育，至反应合适为止。
- 6、流水冲洗 5min。
- 7、滴加苏木素染色液浅染细胞核 3~5min。
- 8、流水冲洗 10min。
- 9、常规脱蜡透明，中性树脂封固。

#### 染色结果：

AChE 酶活性部位	红棕至深棕色
细胞核	蓝色

#### 阴性对照(可选)：

取配制好的 AChE 孵育液，按 AChE 孵育液:AChE-ChE 抑制剂=50:1 充分混合。取相同切片入含 AChE 抑制剂的 AChE 孵育液中，其余同上，呈阴性反应。

#### 注意事项：

1. 本染色液适用于冰冻切片，同时应减少切片在室温暴露的时间。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

