

乙酰胆碱酯酶（AChE）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYHD6-C24	乙酰胆碱酯酶（AChE） 活性检测试剂盒	24T	常量法
AYHD6-C48		48T	

一、测定意义：

乙酰胆碱酯酶（AChE）是胆碱能神经系统的关键水解酶，核心功能是特异性降解神经递质乙酰胆碱（ACh），终止突触间隙的神经信号传递，维持神经冲动的正常节律，其活性直接反映胆碱能神经的功能状态。测定该酶活性可精准评估神经系统功能完整性，如在阿尔茨海默病、帕金森病等神经退行性疾病中，胆碱能神经元受损常伴随 AChE 活性异常，该指标为疾病早期诊断与病情进展监测提供重要依据。

二、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 405nm 处有吸收峰，通过测定 405nm 吸光度增加速率，计算 AChE 活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体30mL×1瓶	液体60mL×1瓶	2-8℃保存
试剂一	液体80mL×1瓶	液体80mL×2瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	-20℃保存
试剂二的配制：用时每瓶粉剂加入试剂一30mL，混匀充分溶解，-20℃分装保存 4 周，避免反复冻融。			
试剂三	液体25mL×1瓶	液体50mL×1瓶	2-8℃保存
试剂四	液体10mL×1瓶	液体20mL×1瓶	2-8℃保存
标准品 (10μmol/mL)	液体 1mL×1支	液体1mL×2支	2-8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量（g）:提取液(mL)为 1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞：按照细胞数量 10⁴ 个:提取液体积 (mL) 500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

3、血清（浆）等液体：直接测定。

测定步骤

- 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 405nm，蒸馏水调零；
- 测定前将试剂恢复至常温；
- 将 10μmol/mL 标准品用蒸馏水依次稀释至 0、1、2、4、6、8μmol/mL，备用；
- 操作表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
样品（μL）	100	100	-	-
蒸馏水（μL）	-	-	100	
标准品（μL）	-	-	-	100
试剂三（μL）	-	400	400	400
试剂二（μL）	500	500	500	500
混匀，37℃孵育10min				
试剂三（μL）	400	-	-	-
12000r 离心3min，取上清				
上清液（μL）	100	100	100	100
试剂一（μL）	750	750	750	750
试剂四（μL）	150	150	150	150
混匀，空白管调零，于波长405nm处测定各管吸光度，分别记为A _{测定} ，A _{对照} ，A _{标准} ，A _{空白} ；计算ΔA _{测定} =A _{测定} -A _{对照} ，ΔA _{标准} =A _{标准} -A _{空白} 。（标曲和空白只需做1-2次）				

五、乙酰胆碱酯酶（AChE）活性计算：

1、标准曲线绘制：以吸光度值 ΔA 标准为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线 $y=kx+b$ ， x 为吸光度值， y 为标准品浓度（ $\mu\text{mol/mL}$ ）。根据标准曲线，将 ΔA 测定带入公式计算出样本浓度（ y ， $\mu\text{mol/mL}$ ）；

2、血清样本乙酰胆碱酯酶（AChE）计算

单位定义：每毫升血清每分钟催化产生 $1\mu\text{mol}$ 巯基的量为一个活力单位。

计算公式： $\text{AChE (U/mL)} = y \div T = y \div 10$

3、组织、细胞样本乙酰胆碱酯酶（AChE）计算

(1)按样本蛋白浓度计算

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生 $1\mu\text{mol}$ 巯基的量为一个活力单位。

计算公式： $\text{AChE (U/mg prot)} = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T$
 $= y \div \text{Cpr} \div 10$

(2)按样本鲜重计算

单位定义：每克组织催化产生 $1\mu\text{mol}$ 巯基的量为一个活力单位。

计算公式： $\text{AChE (U/g)} = y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$
 $= y \div W \div 10$

(3) 按照细菌或细胞数量计算

单位定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 $1\mu\text{mol}$ 巯基的量为一个活力单位。

计算公式： $\text{AChE (U/10}^4 \text{ cell)} = y \times V_{\text{样}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$
 $= y \div 5000$

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.1mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1 mL； T ：反应时间，10min； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL；500：细胞/细菌数，500 万。

六、注意事项：

1、实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测；

2、测定过程中样本和工作液在冰上放置，以免变性和失活。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日