

## 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-M48	乙酰胆碱酯酶 (AChE) 活性检测试剂盒	48T	微量法
AYHD6-M96		96T	

### 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(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 35mL×1 瓶	液体 70mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	-20℃保存
<b>试剂二配制：</b> 用时每瓶粉剂加入试剂一 15mL，混匀充分溶解，-20℃分装保存 4 周，避免反复冻融。			
试剂三	液体 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 5mL×1 瓶	液体 10mL×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

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 405nm，蒸馏水调零；
2. 测定前将试剂恢复至常温；
3. 将 10μmol/mL 标准品用蒸馏水依次稀释至 0、1、2、4、6、8μmol/mL，备用；

#### 4. 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)	20	20	-	-
蒸馏水 (μL)	-	-	20	
标准品 (μL)	-	-	-	20
试剂三 (μL)	-	80	80	80
试剂二 (μL)	100	100	100	100
混匀，37℃孵育 10min				
试剂三 (μL)	80	-	-	-
12000r 离心 3min，取上清				
上清液 (μL)	20	20	20	20
试剂一 (μL)	150	150	150	150
试剂四 (μL)	30	30	30	30
混匀，10min 内于波长 405nm 酶标仪测定各管吸光度，分别记为 A <sub>测定</sub> , A <sub>对照</sub> , A <sub>标准</sub> , A <sub>空白</sub> ；计算 ΔA <sub>测定</sub> =A <sub>测定</sub> - A <sub>对照</sub> , ΔA <sub>标准</sub> =A <sub>标准</sub> - A <sub>空白</sub> 。（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 ( $\mu\text{mol}/\text{mL}$ )。根据标准曲线，将ΔA 测定带入公式计算出样本浓度 (y,  $\mu\text{mol}/\text{mL}$ )；

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  $1\mu\text{mol}$  羟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（BchE）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分催化产生  $1\mu\text{mol}$  羟基的量为一个活力单位。

**计算公式：**  $\text{AchE (U/mg prot)} = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T$   
 $= y \div C_{\text{pr}} \div 10$

(2)按样本鲜重计算

**单位定义：**每克组织催化产生  $1\mu\text{mol}$  羟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  $1\mu\text{mol}$  羟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,  $0.02\text{mL}$ ;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积,  $1\text{mL}$ ;

$T$ : 反应时间,  $10\text{min}$ ;  $C_{\text{pr}}$ : 样本蛋白质浓度,  $\text{mg/mL}$ ;  $500$ : 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