

乙酰胆碱酯酶（AChE）活性检测试剂盒

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC2025

规格：100T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 3mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 6 mL×1 瓶	2-8℃保存

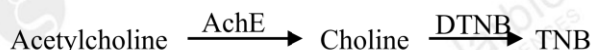
溶液的配制：

1. 试剂二：临用前取 1 瓶加入 2.6 mL 试剂一充分震荡溶解，用不完的 2-8℃保存一周；

产品说明：

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。

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 412nm 吸光度增加速率，计算 AChE 活性。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液枪、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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℃离心 10min，取上清液待测。
2. 细菌、细胞：按照细胞数量（10⁴个）：提取液体积（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℃，离心 10min，取上清置于冰上待测。
3. 血清等液体：直接测定。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至412nm，分光光度计蒸馏水调零。
2. 样本测定：





试剂名称(μL)	测定管	对照管
样本	15	15
试剂二	50	-
37°C 水浴准确反应5min。		
试剂四	50	50
试剂二	-	50
混匀后12000rpm常温离心5min。分别吸取10μL上清液于新的EP管或96孔板中，之后分别加入。		
试剂一	170	170
试剂三	20	20
混匀，放置2min后于微量玻璃比色皿中或96孔板中测定412nm处的吸光度，记为A测定管，A对照管，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。		

三、AChE 酶活计算公式

A、用微量玻璃比色皿测定计算公式：

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 为 1 个酶活单位。

$$\text{AChE 酶活(U/mg prot)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{显色}} \times 10^9] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \div V_{\text{酶促}}) \div T = 2255 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

(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 为 1 个酶活单位。

$$\text{AChE 酶活(U/g 质量)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{显色}} \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{上清}} \div V_{\text{酶促}}) \div T = 2255 \times \Delta A \div W$$

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 为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{AChE 酶活(U/10}^4 \text{ cell)} &= [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{显色}} \times 10^9] \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{上清}} \div V_{\text{酶促}}) \div T \\ &= 2255 \times \Delta A \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

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 为 1 个酶活单位。

$$\text{AChE 酶活(U/mL)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{显色}} \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \div V_{\text{酶促}}) \div T = 2255 \times \Delta A$$

ϵ : TNB 摩尔消光系数, 13.6×10³L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; V 显色: 显色反应体系总体积, 0.2mL=2×10⁻⁴L; 10⁹: 单位换算系数, 1mol=1×10⁹nmol; V 酶促: 酶促反应总体积, 0.115mL; V 上清: 吸取上清液体积, 0.01mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; C_{pr}: 蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; V 样: 加入样本体积, 0.015mL; T: 反应时间, 5min; 细胞数量: 提取时的细胞数量, 万个。

B、用 96 孔板测定的计算公式：

将上述公式中的 d-1cm 改为 d-0.6cm 进行计算即可。

注意事项：

1. 测定过程中样本和工作液在冰上放置，以免变性和失活。
2. 当吸光值大于 1 时，建议将样本稀释后测定。

相关发表文献：



[1] Zhou H, Jian Y, Shao Q, Guo F, Zhang M, Wan F, Yang L, Liu Y, Yang L, Li Y, Yang P, Li Z, Li S, Ding W. Development of Sustainable Insecticide Candidates for Protecting Pollinators: Insight into the Bioactivities, Selective Mechanism of Action and QSAR of Natural Coumarin Derivatives against Aphids. *J Agric Food Chem*. 2023 Nov 29;71(47):18359-18374. doi: 10.1021/acs.jafc.3c03493. Epub 2023 Nov 15. PMID: 37965968.

[2] Chen H, Mi J, Li S, Liu Z, Yang J, Chen R, Wang Y, Ban Y, Zhou Y, Dong W, Sang Z. Design, synthesis and evaluation of quinoline-O-carbamate derivatives as multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2023 Dec;38(1):2169682. doi: 10.1080/14756366.2023.2169682. PMID: 36688444; PMCID: PMC9873282.

[3] Rao C, Cao X, Li L, Zhou J, Sun D, Li B, Guo S, Yuan R, Cui H, Chen J. Bisphenol AF induces multiple behavioral and biochemical changes in zebrafish (*Danio rerio*) at different life stages. *Aquat Toxicol*. 2022 Dec;253:106345. doi: 10.1016/j.aquatox.2022.106345. Epub 2022 Oct 29. PMID: 36351319.

[4] Zhang C, Fu Q, Shao K, Liu L, Ma X, Zhang F, Zhang X, Meng L, Yan C, Zhao X. Indole-3-acetic acid improves the hepatic mitochondrial respiration defects by PGC1 α up-regulation. *Cell Signal*. 2022 Nov;99:110442. doi: 10.1016/j.cellsig.2022.110442. Epub 2022 Aug 18. PMID: 35988807.

[5] Cao X, Yuan R, Sun D, Ji X, Wei Y, Li L, Guo S, Li B, Chen J. Assessment of the therapeutic potential of probiotics against carbon quantum dots-induced neurotoxicity in common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquat Toxicol*. 2023 May;258:106508. doi: 10.1016/j.aquatox.2023.106508. Epub 2023 Mar 23. PMID: 37001197.

参考文献:

[1] Voss G, Sachsse K. Red cell and plasma cholinesterase activities in microsamples of human and animal blood determined simultaneously by a modified acetylthiocholine-DTNB procedure[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1970, 16(3): 764-772.

[2] Komersová A, Komers K, Cegan A. New findings about Ellman's method to determine cholinesterase activity[J]. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 2007, 62(3): 151-152.

相关系列产品:

BC0840/BC0845 羧酸酯酶 (CarE) 活性检测试剂盒

BC2130/BC2135 组织及血液酸性磷酸酶 (ACP) 活性检测试剂盒

BC2140/BC2145 组织及血液碱性磷酸酶 (AKP/ALP) 活性检测试剂盒

