

乙酰胆碱酯酶(A-ChE)测试盒

比色法:50 管/24 样

一、测定原理:

乙酰胆碱酯酶(Acetyl choline esterase)水解乙酰胆碱生成胆碱及乙酸,胆碱可以与巯基显色剂反应生成 TNB (对称三硝基苯, Sym-Trinitrobenzene)黄色化合物,根据颜色深浅进行比色定量,水解产物胆碱的数量可反应胆碱酯酶的活力。

二、试剂组成及配制:

试剂一: 标准品, 粉剂×3 支, 4℃保存 6 个月。 1mol/ml

标准品应用液配制: 取标准品一支加生理盐水 10ml 混匀, 现用现配。

试剂二: 底物, 粉剂×2 支, 4℃保存 6 个月。

底物缓冲液配制: 用时每支粉剂加生理盐水 20ml, 制备成底物缓冲液, 4℃保存两周。

试剂三: 显色剂贮备液, 3ml×1 支, 4℃保存 6 个月。

显色应用液配制: 用时按照显色剂贮备液: 生理盐水=1:9 稀释, 配成显色应用液。按需配制, 也可一次配制 30ml, 避光冷藏 3 个月。

试剂四: 抑制剂, 液体 2ml×1 支。打开后装在空的小塑料瓶内(附空瓶一只), 室温保存 6 个月。

试剂五: 透明剂, 液体 6ml×1 支, 室温保存 6 个月。天冷时会有沉淀或混浊, 须在 37℃水浴加热至透明后方可使用。

生理盐水: 60ml×2 瓶, 室温保存 6 个月。

三、操作过程:

1、样品前处理:

组织样本：准确称取组织重量，按重量（g）:体积（ml）=1:9 的比例，加入 9 倍体积的生理盐水，冰水浴条件下机械匀浆，2500 转/分，离心 10 分钟，取上清液待测（同时取部分上清测定蛋白浓度，蛋白定量试剂盒本所有售）。

血清（浆）：取不抗凝或抗凝全血 1000~1500 转/分，离心 8 分钟，取上层血清（浆）。一般测定时将血清或血浆用生理盐水 1：9 稀释（具体稀释浓度以预实验结果为准）。

全血样本：取 0.1ml 抗凝全血加双蒸水至 10ml，即按 1：99 稀释，充分混匀。如果您的样本量很少，可以减少取样量。例如取 0.01ml 或 0.02ml 抗凝全血加双蒸水至 1ml 或 2ml。取 a ml（一般为 0.1ml）进行检测，每个样本取样前必须充分混匀。

2、操作步骤：

	测定管	对照管	标准管	空白管
样本（ml）	a *			
1mol/ml 标准品应用液（ml）		a *		
双蒸水（ml）				a *
底物缓冲液（ml）	0.5	0.5	0.5	0.5
显色应用液（ml）	0.5	0.5	0.5	0.5
混匀，37°C 准确反应 6 分钟				
抑制剂（ml）	0.03	0.03	0.03	0.03
透明剂（ml）	0.1	0.1	0.1	0.1
样本（ml）		a *		
混匀，静置 15 分钟，波长 412nm，0.5cm 光径，双蒸水调零，测各管吸光度 OD 值。				

注：a*所表示所取的样品量、标准品量、双蒸水的量,三者均相等：

- ①、血清（浆）测试前用生理盐水 10 倍稀释，参考取样量为 30~50 μ l。
- ②、10%脑组织匀浆的参考取样量为 30~50 μ l。
- ③、1:99 稀释后的全血稀释液取 0.1ml，取样前每只要摇匀。

三、计算公式及举例：

（一）、组织匀浆中乙酰胆碱酯酶的计算：

1、单位定义：

每毫克组织蛋白在 37°C 保温 6 分钟，水解反应体系中 1mol 基质为 1 个活力单位。

3、计算公式：

$$\text{组织匀浆中 AChE 活力}(U / \text{mgprot}) = \frac{\text{测定 OD 值} - \text{对照 OD 值}}{\text{标准 OD 值} - \text{空白}} \times \frac{\text{标准品浓度}}{\text{待测样本蛋白浓度}} \times \frac{(1\mu\text{mol} / \text{ml})}{(\text{mgprot} / \text{ml})}$$

（二）、血清中乙酰胆碱酯酶的计算：

1、单位定义：

每毫升血清样本在 37°C 保温 6 分钟，水解反应体系中 1 mol 基质为 1 个活力单位。

2、计算公式：

血清(浆)中 AChE 测定 OD 值 - 对照 OD 值 标准品浓度 样本测试前

$$\text{活力}(U/ml) = \frac{\text{标准 OD 值} - \text{空白 OD 值}}{\text{标准 OD 值} - \text{空白 OD 值}} \times (1\mu\text{mol}/\text{ml}) \times \text{稀释倍数}$$

(三)、全血中乙酰胆碱酯酶的计算:

1、单位定义:

每毫升全血在 37℃ 保温 6 分钟, 水解反应体系中 1 μmol 基质为 1 个活力单位。

2、计算公式:

$$\text{全血中 AChE 活力} (U/ml) = \frac{\text{测定 OD 值} - \text{对照 OD 值}}{\text{标准 OD 值} - \text{空白 OD 值}} \times \text{标准品浓度} \times \text{样本测试前稀释倍数}$$