

乙酰胆碱转移酶（ChAT）测试盒/测组织

比色法：40 管/20 样

一、实验仪器：

试管、微量移液器、旋涡混匀器、37℃水浴箱（气浴箱）、低速离心机、可见分光光度计（324nm）

二、适用范围：

本试剂盒可测各种动物组织样本中 ChAT 活性；

三、测定意义：

乙酰胆碱 Ach 是调节食道平滑肌运动的主要的兴奋性神经递质。食道平滑肌收缩主要是由于 Ach 释放引起。而乙酰胆碱转移酶(Choline acetyltransferase ChAT)和乙酰胆碱酯酶(Acetylcholinesterase AChE)分别是 Ach 的合成酶和水解酶,调节 Ach 的代谢。食道组织中这两个酶的活力代表了食管内源性胆碱能神经功能状态。

乙酰胆碱是延髓脊髓运动神经元,自主神经系统神经节前纤维,神经节后胆碱能(副交感神经)纤维,以及中枢神经系统内许多神经元(例如基底节,大脑运动区皮层)的主要神经递质。

它是通过胆碱乙酰转移酶的作用,由胆碱与来自线粒体的乙酰辅酶 A 所合成。在获得释放后,乙酰胆碱刺激特殊的胆碱能受体,这种相互作用很快被局部的胆碱酯酶所终止,后者使乙酰胆碱被水解为胆碱与乙酸盐。乙酰胆碱的水平由胆碱乙酰转移酶和胆碱的摄取所调控。

四、操作过程

| | 测定管 | 对照管 |
|----------|-----|-----|
| 试剂一 (μl) | 105 | 105 |
| 试剂二 (μl) | 5 | 5 |
| 试剂三 (μl) | 10 | 10 |

| | | |
|--|-----|------------|
| 试剂四 (μl) | 10 | 10 |
| 试剂五 (μl) | 10 | 10 |
| 试剂六 (μl) | 10 | 10 |
| 混匀, 37° C 水浴预温 5 分钟 | | |
| 5%的组织匀浆上清 (1) | 25 | 煮沸的匀浆上清 25 |
| 混匀, 37° C 水浴 20 分钟, 100° C 沸水水浴 2 分钟终止反应 | | |
| 蒸馏水 (1) | 425 | 425 |
| 混匀, 4000 r/min×10min 离心后取上清进行显色反应 | | |
| 上清 (1) | 500 | 500 |
| 试剂七 (1) | 10 | 10 |
| 静置 15 分钟, 在 324nm 处, 用 1cm 光径, 2mm 内径的石英比色皿, 蒸馏水调零, 测定各管的吸光度值。 | | |

五、计算公式:

$$\text{ChAT活力} = \frac{\text{测定OD值} - \text{对照OD值}}{\text{反应时间} (20\text{分钟} \times 1.98 \times 10^{-2})} \times \frac{\text{反应总体积} (600\text{ul})}{\text{取样量} (25\text{ul})} \times \frac{5\% \text{匀浆液浓度}}{\text{(g组织湿重/ml)}}$$