

乙酰胆碱酯酶检测试剂盒 (100T)

一般说明

乙酰胆碱酯酶 (ACHES) 是将神经递质乙酰胆碱 (ACH) 水解为乙酸和胆碱的酶。ACHE 位于突触间隙并且可通过催化 ACH 的分解来终止突触传递, 从而允许胆碱能神经元在激活后返回静息状态。它还存在于红细胞、运动和感觉纤维、肌肉、神经以及中央和外周组织的膜中。ACHE 活性的变化可能是由于暴露于某些杀虫剂环境下导致的, 这些杀虫剂起到胆碱酯酶抑制剂的作用。ACHE 抑制剂也可用于治疗某些疾病, 例如痴呆症。利用 ACHE 催化得到的硫代胆素, 与显色剂二硫代双硝基苯甲酸反应呈现出黄色, 通过测定产物颜色, 从而计算样本中酶的活性。乙酰胆碱酯酶的活性检测范围为 10 - 600 U/L 之间。

产品应用

可直接检测血液、血清、血浆和其它生物样本中乙酰胆碱酯酶的活性。

试剂盒组成

缓冲液: 30 mL

反应物: 240 mg

校准液: 4 mL (相当于 200U/L)

储存: 常温保存。

样品准备

血液样品需用缓冲液稀释 40 倍。例如, 用吸量管精确吸取 5 μ L 血液与 195 μ L 缓冲液混合。组织或细胞样品加入 0.1 M 磷酸盐缓冲液, 短暂的超声波处理或匀浆后, 14,000rpm 离心 5 分钟, 取上清进行检测。最好采用新鲜的样品进行检测, 如条件不允许, 请将样品冷藏, 并在 24 小时内检测。

反应试剂制备

反应试剂应现用现配, 并在 30 分钟内使用。每一反应孔需 2 mg 反应物。计算出所需的总试剂量, 用离心管进行称量。每 2 mg 反应物加入 200 μ L 的缓冲液, 摇匀使其充分溶解。

检测步骤

1. 标准液、空白对照: 取透明平底 96 孔板, 分别将 200 μ L 水、200 μ L 校准液, 10 μ L 样品放入不同的孔中。
2. 显色反应: 将 190 μ L 配制好的反应试剂放入有样品的孔内, 并轻敲使其混合, 分别在反应 2 分钟和 10 分钟时读取 OD_{412nm} 测值。

酶活性计算

乙酰胆碱酯酶活性计算公式:

$$\text{乙酰胆碱酯酶活性} = \frac{\text{OD}_{10} - \text{OD}_2}{\text{OD}_{\text{校准液}} - \text{OD}_{\text{水}}} \times 200 \times n \quad (\text{U/L})$$

OD₁₀和OD₂分别代表样品在10分钟和2分钟时的OD测值; OD_{校准液}和OD_水分别代表校准液和水在10分钟时的OD测值; n是稀释系数(血液样品n=40); 数字200代表校准液在检测条件下的等价活性。注意: 如果计算所得酶活性大于600 U/L, 请用缓冲液稀释待测样品并再次检测, 结果需要乘以稀释系数。

单位定义: 在检测条件下(室温, pH = 7.5), 每单位酶每分钟可以催化产生1 μ mole的硫代胆素。