（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K174-M

产品规格：48T(48 samples)/96T(96 samples)

检测仪器：酶标仪(412 nm)

Elabscience®乙酰胆碱酯酶（AchE）比色法测试盒

Acetylcholinesterase (AchE) Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清、血浆、动物组织和细胞样本中的乙酰胆碱酯酶活性。

检测原理

乙酰胆碱酯酶(AchE)催化乙酰胆碱(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 412 nm 处有特征吸收峰，通过测定 412 nm 处吸光度增加速率，计算 AchE 的活性。

本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（货号：E-BC-K318-M）。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	裂解液 (Lysis Buffer)	50 mL×1 瓶	50 mL × 2 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	缓冲液 (Buffer Solution)	15 mL×1 瓶	30 mL × 1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 (Chromogenic Agent)	粉剂×1 瓶	粉剂 × 1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	底物 (Substrate)	粉剂×1 支	粉剂 × 1 支	2-8℃避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪（检测波长 412 nm）

试剂：双蒸水、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）

试剂准备

① 试剂二37℃孵育30 min；

② 试剂三、四需平衡至室温后再使用；

③ 试剂三工作液的配制：

规格1，48T：向试剂三中，加入11 mL的试剂二，溶解混匀即可，2-8℃ 避光可保存7天。

规格2，96T：向试剂三中，加入22 mL的试剂二，溶解混匀即可，2-8℃ 避光可保存7天；

④ 试剂四工作液的配制：

规格1，48T：向试剂四中，加入0.7 mL的试剂二，溶解混匀即可，2-8℃避光可保存7天。

规格2，96T：向试剂四中，加入1.3 mL的试剂二，溶解混匀即可，2-8℃避光可保存7天。

样本准备

① 样本处理

血清血浆样本：可直接测定。

组织样本：按照组织样本质量(g)：试剂一体积(mL) =1：9 匀浆，离心后取上清待测，留取部分上清进行蛋白浓度测定。

细胞样本：取1× 10^6个细胞加入200 μL试剂一进行匀浆，4°C，10000 × g离心10 min，取上清置于冰上待测，留取部分上清进行蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：1.225-490 U/mL，可参考下表进行稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
小鼠血清	8-20	小鼠血浆	4-10
人血清	4-10	人胸水	不稀释
大鼠血清	4-10	10%小鼠肝组织	不稀释
狗血清	4-10	10%小鼠肾组织	不稀释
人血浆	4-10	10%小鼠脑组织	2-8
马血清	2-8	10%鲫鱼肉组织	不稀释

注：稀释液为 PBS（0.01 M，pH 7.4）或生理盐水（在预实验过程中，当第 330 s 测得的 OD 值 A_2＞2.5 时，样本需进一步稀释）。

实验关键点

① 加样时需准确操作，室温反应 5 min 需严格控制，且在 10 min 内完成测定。

② 取用过程中避免试剂三和试剂四的交叉污染。

操作步骤

① 测定孔中加入 20 μL 的待测样本上清液。

② 向步骤①各孔中加入 170 μL 试剂三工作液。

③ 向步骤②各孔中加入 10 μL 试剂四工作液。

④ 酶标仪振板 5 s，于波长 412 nm 处，测定第 30 s 时的 OD 值记为 A_1，测定第 330 s 时的 OD 值记为 A_2，△A 测定孔=A_2-A_1。

操作表

	测定孔
上清液(μL)	20
试剂三工作液(μL)	170
试剂四工作液(μL)	10
酶标仪振板 5 s，于波长 412 nm 处，测定第 30 s 时的 OD 值记为 A_1，第 330 s 时的 OD 值记为 A_2，$\triangle A_{测定孔}=A_2-A_1$。	

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（货号：E-BC-K318-M）。

结果计算

血清血浆等液体样本 AchE 活性：

定义：在 37℃条件下，每毫升液体样本每分钟催化产生 1 nmol TNB 的酶量为 1 个活性单位。

$$\text{AchE 酶活(U/mL)} = (\triangle A_{测定孔} \div \varepsilon \div d \times V_{反总} \times 10^9) \div V_{样} \div T \times f$$

$$= 245 \times \triangle A_{测定孔} \times f$$

组织和细胞 AchE 活性(按蛋白浓度计算)：

定义：在 37℃条件下，每毫克蛋白每分钟催化产生 1 nmol TNB 的酶量为 1 个活性单位。

$$\text{AchE 酶活(U/mgprot)} = (\triangle A_{测定孔} \div \varepsilon \div d \times V_{反总} \times 10^9) \div (C_{pr} \times V_{样}) \div T \times f$$

$$= 245 \times \triangle A_{测定孔} \div C_{pr} \times f$$

组织 AchE 活性(按组织重量计算)：

定义：在 37℃条件下，每克组织每分钟催化产生 1 nmol TNB 的酶量为 1 个活性单位。

$$\text{AchE 酶活(U/g 鲜重)} = (\triangle A_{测定孔} \div \varepsilon \div d \times V_{反总} \times 10^9) \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div T \times f$$

$$= 245 \times \triangle A_{测定孔} \div W \times f$$

注解:

$\triangle A_{测定孔}$：在 412 nm 处测定孔在两个时间点内的 OD 值的变化($\triangle A_{测定孔} = A_2 - A_1$)

ε：TNB 的摩尔吸光系数，1.36×10^4 L/mol/cm

d：比色光径（0.6 cm）

$V_{反总}$：反应体系总体积，200 μL = 2×10^{-4} L

$V_{样总}$：提取液体积，1 mL

10^9：单位换算 1 mol = 10^9 nmol

C_{pr}：蛋白浓度(mg/mL)

$V_{样}$：加入上清液体积，20 μL = 0.02 mL

W：样品质量

T：反应时间，5 min

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	1.225-490 U/mL	**平均批间差**	9.3 %
灵敏度	1.225 U/mL	**平均批内差**	4.7 %
平均回收率	104 %		

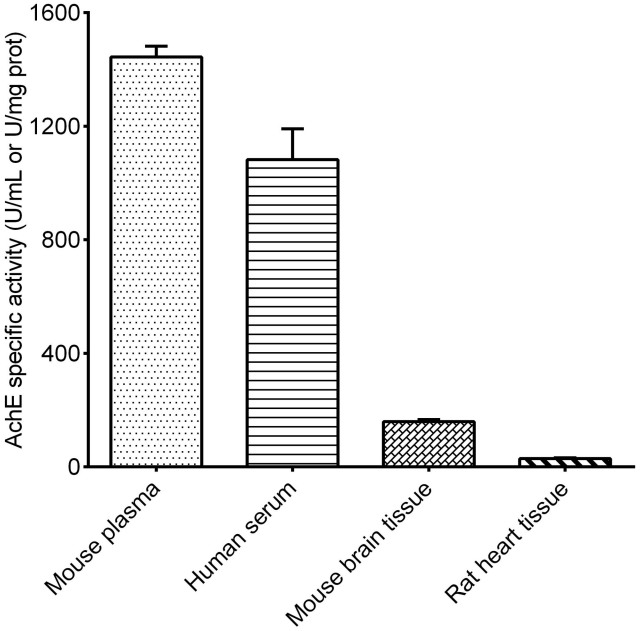
附录2 实例分析

例如检测大鼠血清(数据仅供参考)：

将血清：PBS（0.01 M，pH 7.4）=1: 4稀释，取20 μL稀释后的大鼠血清，按操作表检测，结果如下：第30 s吸光值A_1为0.297，第330 s吸光值A_2为0.405，则$\triangle A_{测定孔}=A_2 - A_1=0.108$，计算结果为：

$$\text{AchE 酶活(U/mL)} = 245 \times 0.108 \times 5 = 132.3\ \text{U/mL}$$

按照说明书操作，测定小鼠血浆（稀释倍数5，加样量20 μL）、人血清（稀释倍数10，加样量20 μL）、小鼠脑组织（10%组织匀浆的蛋白浓度6.879 mg/mL，稀释倍数3，加样量20 μL）、大鼠心组织（10%组织匀浆的蛋白浓度3.410 mg/mL，加样量20 μL）中AchE酶活（如下图）：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
测值不稳定，复孔差异大	加样时间过长	尽可能的缩短加样时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数，重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测
样本测量结果>490 U/mL	样本浓度太高	选择合适稀释倍数，重新检测

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Shan X , Lu Y , Luo Z ,et al.A Long-Acting Lyotropic Liquid Crystalline Implant Promotes the Drainage of Macromolecules by Brain-Related Lymphatic System in Treating Aged Alzheimer's Disease[J].ACS Nano, 2024, 18(13):16.DOI:10.1021/acsnano.4c01206.

2. Tianxu L , Mengting Z , Muhammad A I ,et al.The regulatory effects of fucoidan and laminarin on functional dyspepsia mice induced by loperamide[J].Food & Function, 2023.DOI:10.1039/d3fo00936j.

3. Sharma A , Ray A , Sathaye S ,et al.A supercritical fluid co-extract of turmeric powder and dried coconut shreds shows neuroprotection against AlCl3-induced Alzheimer's disease in rats through nose to brain delivery[J].Bioorganic Chemistry, 2024, 143(000):13.DOI:10.1016/j.bioorg.2023.107046.

4. Liu X , Gong Q , Deng X ,et al.UHPLC-Q/Orbitrap HRMS combined with spectrum–effect relationship and network pharmacology to discovery the gastrointestinal motility–promoting material basis in Citri Sarcodactylis Fructus[J].Journal of Ethnopharmacology, 2025, 337(Part2).DOI:10.1016/j.jep.2024.118926.

5. Xu B , Wu H , Guo W ,et al.Voacangine mitigates oxidative stress and neuroinflammation in middle cerebral artery occlusion-induced cerebral ischemia/reperfusion injury by averting the NF-κBp65/MAPK signaling pathways in rats[J].ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY, 2024, 39(7):10.DOI:10.1002/tox.24274.

6. Albrakati A .The potential neuroprotective of luteolin against acetamiprid-induced neurotoxicity in the rat cerebral cortex[J].Frontiers in Veterinary Science, 2024.DOI:10.3389/fvets.2024.1361792.