

乙酰胆碱转移酶（ChAT）活性试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA2876

产品规格：24样

产品简介：

乙酰胆碱转移酶(Choline acetyltransferase ChAT, EC 2.3.1.6) 是乙酰胆碱Ach的合成酶, 调节Ach的代谢。Ach是调节食道平滑肌运动的主要的兴奋性神经递质。

ChAT的测定是以乙酰辅酶A和胆碱为底物, 在ChAT的作用下, 反应的生成乙酰胆碱和辅酶A, 该产物和显色剂反应于412nm处有吸收峰, 进而计算出ChAT的活力。

酶催化反应方程式: $\text{acetyl-CoA} + \text{choline} = \text{CoA} + \text{O-acetylcholine}$ 。

试剂盒组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体30mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	粉剂mg×1支	-20℃	临用前甩几下或离心使粉剂落入底部, 再加1.2mL蒸馏水溶解备用, 可-20℃分装冻存。
试剂二	粉剂mg×1支	2-8℃	临用前甩几下或离心使粉剂落入底部, 再加2.4mL蒸馏水溶解备用, -20℃保存。
试剂三	液体27mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	液体4mL×1瓶	2-8℃	若凝固, 可在25℃水浴温育片刻至全部融解后使用。
标准品	粉剂1mg×1支	2-8℃	若重新做标曲, 则用到该试剂。

所需仪器和用品:

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿（光径1cm）、可调式移液枪、离心机、研钵。

乙酰胆碱转移酶（ChAT）测定:

建议正式实验前选取2个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1. 样本制备:

(1) 组织样本: 取约0.1g组织, 加入1mL提取液, 进行冰浴匀浆。12000rpm, 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量(g): 提取液体积(mL)为1: 5~10的比例进行提取。

(2) 细菌或细胞样本: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约500万细菌或细胞, 加入1mL提取液, 超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率20%或200W, 超声3s, 间隔10s, 重复30次); 12000rpm, 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量(10^4): 提取液(mL)为500~1000: 1的比例进行提取。

(3) 液体样本: 直接检测; 若浑浊, 离心后取上清检测。

2. 上机检测:

(1) 可见分光光度计预热30min, 调节波长到412nm, 蒸馏水调零。

(2) 所有试剂解冻至室温(25℃)或于水浴锅(25℃)孵育15-30min左右。

(3) 在EP管中依次加入:

试剂(μL)	测定管	对照管
样本	80	80
试剂一	40	-
试剂二	40	40
试剂三	500	540
混匀, 37℃孵育30min		
试剂四	80	80



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

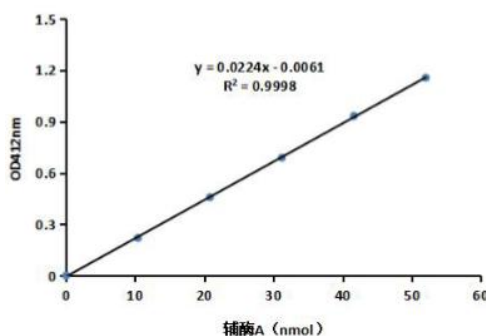
邮箱: zzlybio@126.com

混匀，静置5min，将所有液体转移至1mL比色皿中，于412nm处读取吸光值， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本做一个自身对照）。

- 【注】：1.若 ΔA 较小，可以增加37°C保温反应时间T（如增至1小时），或增加样本量V1（由80 μ L增至160 μ L，则试剂三相应减少），则改变后的T和V1需重新代入公式计算。
2. ΔA 最好控制在标准曲线的线性范围内，若 ΔA 的值超过1.5，可对样本进行稀释再测定，稀释倍数D代入计算公式计算；或减少样本量V1（如减至40 μ L，则试剂三相应增加），或减少37°C反应时间T（如减至10min），则改变后的T、V1和稀释倍数D需重新代入公式计算。

结果计算：

1. 标准曲线方程为 $y = 0.0224x - 0.0061$ ；x为标准品摩尔质量（nmol），y为 ΔA 。



2. 按照样本质量计算：

酶活定义：每克组织每分钟催化产生1nmol辅酶A定义为一个酶活力单位。

$$\text{ChAT活性(nmol/min/g鲜重)} = [(\Delta A + 0.0061) \div 0.0224] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D$$

$$= 18.6 \times (\Delta A + 0.0061) \div W \times D$$

3. 按照样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生1nmol辅酶A定义为一个酶活力单位。

$$\text{ChAT活性(nmol/min/mg prot)} = [(\Delta A + 0.0061) \div 0.0224] \div (Cpr \times V1) \div T \times D$$

$$= 18.6 \times (\Delta A + 0.0061) \div Cpr \times D$$

4. 按细胞数量计算：

酶活定义：每1万个细菌或细胞每分钟催化产生1nmol辅酶A定义为一个酶活力单位。

$$\text{ChAT活性(nmol/min/10}^4\text{cell)} = [(\Delta A + 0.0061) \div 0.0224] \div (500 \times V1 \div V) \div T \times D$$

$$= 18.6 \times (\Delta A + 0.0061) \div 500 \times D$$

5. 按液体体积计算：

酶活定义：每毫升液体每分钟催化产生1nmol辅酶A定义为一个酶活力单位。

$$\text{ChAT活性(nmol/min/mL)} = [(\Delta A + 0.0061) \div 0.0224] \div V1 \div T \times D = 18.6 \times (\Delta A + 0.0061) \times D$$

W---样品质量，g；

V---提取液体积，1mL；

V1---上清液体积（mL），0.08mL；

T---反应时间，30min；

D---稀释倍数，未稀释即为1；500---细胞数量，万；辅酶A的分子量---Mr=767.53；

Cpr---上清液蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的BCA蛋白质含量测定试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液（2mg/mL）：用前甩几下使粉体落入底部，再加0.5mL蒸馏水溶解标准品（母液需在两天内用完且-20°C保存）。
2. 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5mg/mL。
3. 根据加样体系：80 μ L标准品+580 μ L试剂三+80 μ L试剂四，于412nm处测定；根据结果即可制作标准曲线。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com