

CheKine™ 乙酰胆碱 (Ach) 含量检测试剂盒 (微量法)

Cat #: KTB1711

Size: 48 T/24 S 96 T/48 S

	乙酰胆碱 (Ach) 含量检测试剂盒 (微量法)		
REF	货号: KTB1711	LOT	批号: 见产品标签
	检测范围: 20-3,750 µg/mL		灵敏度: 20 µg/mL
	适用样本: 血清和全血样本		
	保质期: -20°C, 避光保存 6 个月		

原理

乙酰胆碱 (Acetylcholine, Ach) 是一种在生物体内广泛存在的神经递质, 它在神经系统中起着至关重要的作用。CheKine™ 乙酰胆碱 (Ach) 含量检测试剂盒 (微量法) 提供了一种简单、方便、快速的乙酰胆碱含量检测方法, 适用于血清和全血样本。其原理是 Ach 和底物反应生成乙酰羟胺酸, 在酸性条件下形成棕色化合物, 其颜色深浅与 Ach 浓度成正比。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Reagent I	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20°C, 避光保存
Reagent II	7 mL	14 mL	4°C, 避光保存
Reagent III	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4°C, 避光保存
Reagent IV	3 mL	6 mL	4°C
Reagent V	3 mL	6 mL	4°C
Reagent VI	3 mL	6 mL	4°C, 避光保存
Reagent VII	1.5 mL	1.5 mL	4°C
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4°C, 避光保存

注意: 正式检测前, 建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或可见分光光度计 (能测 540 nm 处的吸光度)
- 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
- 低温离心机、制冰机、涡旋震荡仪

- 去离子水

试剂准备

Working Reagent I：临用前配制；对于 48 T 试剂盒，加入 1.75 mL 去离子水充分溶解粉剂；对于 96 T 试剂盒，加入 3.5 mL 去离子水，充分溶解粉剂；未用完的试剂-20℃避光分装可保存 2 周，避免反复冻融。

Reagent II：即用型；使用前，平衡到室温。4℃避光保存。

Working Reagent III：临用前配制；对于 48 T 试剂盒，加入 3 mL 去离子水充分溶解粉剂；对于 96 T 试剂盒，加入 6 mL 去离子水，充分溶解粉剂；未用完的试剂 4℃避光可保存 1 个月。

Working Reagent IV：临用前配制；按照 Working Reagent III:Reagent IV=1:1 充分混匀，根据实验用量按需配制，现用现配。

Reagent V：即用型；使用前，平衡到室温。4℃保存。

Reagent VI：即用型；使用前，平衡到室温。4℃避光保存。

Reagent VII：即用型；使用前，平衡到室温。4℃保存。

Standard：临用前配制；加入 1 mL Reagent VII 充分溶解，配制成 5 mg/mL 乙酰胆碱储备液；-20℃避光分装可保存 1 个月，避免反复冻融。

500 µg/mL Standard：取 20 µL 5 mg/mL 乙酰胆碱储备液，加入 180 µL 去离子水充分混匀，限当天使用。

注意：Reagent I，Reagent II，Reagent III 和 Standard 均有一定毒性，建议在通风橱进行实验。

样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存一个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

1. 全血样本：取 200 µL 肝素抗凝新鲜全血，加入 350 µL 去离子水混合使溶血，加 50 µL Working Reagent I，缓慢加入 200 µL Reagent II，充分混匀，3,500 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

2. 血清样本：取 200 µL 血清，加 50 µL Working Reagent I，缓慢加入 200 µL Reagent II，充分混匀，3,500 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 540 nm，可见光分光光度计用去离子水调零。

2. 操作表（下述操作在 1.5 mL EP 管中进行）：

试剂	空白管 (µL)	标准管 (µL)	测定管 (µL)	对照管 (µL)
500 µg/mL Standard	0	8	0	0
去离子水	60	52	0	0
Reagent II	20	20	0	0
样本上清	0	0	80	80
Working Reagent IV	80	80	80	0

混匀，室温静置 15 min

Reagent V	40	40	40	0
Reagent VI	40	40	40	40
Reagent V	0	0	0	40
Working Reagent IV	0	0	0	80

于涡旋振荡仪混匀 1 min, 取 200 μ L 上层液转移至 96 孔板, 测定 540 nm 处吸光值, 分别记为 $A_{\text{空白}}$, $A_{\text{标准}}$, $A_{\text{测定}}$ 和 $A_{\text{对照}}$, 计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

注意: 空白管和标准管只需做 1-2 次, 每个测定管均需设置一个对照管。实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.02, 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 0.4, 上清液可用去离子水进一步稀释, 计算结果乘以稀释倍数, 或减少提取用样本量。

结果计算

注意: 我们为您提供的计算公式, 包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

乙酰胆碱含量的计算:

(1) 按全血体积:

$$Ach (\mu\text{g/mL}) = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \times 4 = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times 200$$

(2) 按血清体积:

$$Ach (\mu\text{g/mL}) = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \times 2.25 = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times 112.5$$

$C_{\text{标准}}$: 标准品终浓度, 50 $\mu\text{g/mL}$; 4: 对全血初始稀释倍数; 2.25: 对血清初始稀释倍数。

结果展示

以下数据仅供参考, 实验者需根据自己的实验对样品进行检测。

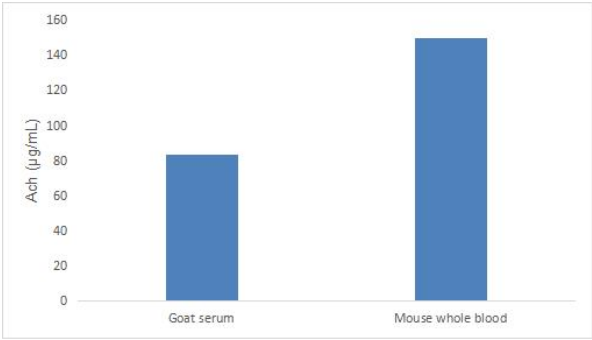


Figure 1. 本试剂盒测定山羊血清和小鼠全血中 Ach 的含量

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1200	CheKine™ 蛋白质羰基含量检测试剂盒（微量法）
KTB1551	CheKine™ 非蛋白质巯基含量检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用, 不适用于临床诊断。为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

