

# 乙酰胆碱(Ach)检测试剂盒

(用于血清、血浆、细胞培养上清液和其它生物体内)

## 原理

在神经细胞中，乙酰胆碱是由胆碱和乙酰辅酶 A 在胆碱乙酰移位酶（胆碱乙酰化酶）的催化作用下合成的。由于该酶存在于胞浆中，因此乙酰胆碱在胞浆中合成，合成后由小泡摄取并贮存起来。。

本实验采用酶法在酶标板上反应，标准品和样品中的 Ach 与葡萄糖氧化酶作用产生过氧化氢，然后在过氧化物酶作用下和 OPD 底物工作液显色，最后加终止液硫酸，在 490nm 处测 OD 值，Ach 浓度与 OD 值成正比，可通过绘制标准曲线求出标本中 Ach 浓度。

## 试剂盒组成 (2-8℃保存)

酶标板 (Coated Wells)	96孔	标准品 (Standards) : 100umol/ml	0.5ml
封板纸	一张	酶标抗体工作液 (Enzyme Conjugate)	2.4ml
底物工作液 (OPD Solution)	12ml	终止液 (Stop Solution)	12ml

## 准备试剂与收集血样

1. 收集标本：血清、血浆（EDTA、柠檬酸盐、肝素抗凝）、尿液、细胞培养上清液、组织匀浆等尽早检测，2-8℃保存 48 小时；更长时间须冷冻（-20℃或-70℃）保存，避免反复冻融。正常标本测定前用蒸馏水至少作 1:10 稀释（取 10ul，加标本稀释液 90ul，稀释 10 倍）。
2. 标准品液配制：设标准管 8 管，第一管加蒸馏水 900ul，第二至第八管加入蒸馏水 500ul。在第一管中加入 100umol/ml 的标准品溶液 60ul 混匀后用加样器吸出 500ul，移至第二管。如此反复作对倍稀释，从第七管中吸出 500ul 弃去。第八管为空白对照。
3. 底物工作液配制：临用前将 OPD 片放入蒸馏水中溶解，每片加蒸馏水 5ML。

## 检测程序

1. 加样：每孔各加入标准品或待测样品 20ul。
2. 每孔加入底物工作液 100ul。37℃孵育 5 分钟读取 OD 值 A1。
3. 每孔加酶标抗体工作液 20ul。振荡混匀后将反应板置 37℃15 分钟。
4. 每孔加入 100ul 终止液混匀。
5. 30 分钟内用酶标仪在 490nm 处测吸光值 A2。

## 结果计算与判断

1. 所有 OD 值都应用 A2 减去 A1 后再行计算。
2. 以标准品 6250、3120、1560、780、390、195、97.5、0 nmol/ml 为横坐标，OD 值为纵坐标，在坐标纸上作图，画出标准曲线。
3. 根据样品 OD 值在该曲线图上查出相应 Ach 含量，再乘上稀释倍数即可。

## 试剂盒性能

1. 灵敏度：最小的 Ach 检测浓度小于 50nmol/ml。
2. 特异性：可同时检测重组或天然的 Ach。不与其它细胞因子有交叉反应。
3. 重复性：板内、板间变异系数均小于 10%。

## 注意事项

1. 以上标准孔及待测样品均建议做复孔，每次测定应同时做标准曲线。
2. 板条开封后剩余板条要再封好，保持板条干燥。
3. 本试剂盒宜置 4℃冰箱保存。
4. 本试剂盒仅用于科研，不能用于临床诊断！
5. 样本如果浑浊需要离心或稀释后检测。