

丁酰胆碱酯酶(B-CHE)测定试剂盒说明书(精简版)

(货号: A025-1-1 比色法 50T/24 样)

一、测定原理:

丁酰胆碱酯酶水解丁酰胆碱生成胆碱及乙酸,胆碱可以与巯基显色剂反应生成 TNB 黄色化合物,根据颜色深浅进行比色定量,水解产物胆碱的数量可以反应胆碱酯酶的活力。

二、试剂组成及配制: (试剂盒有效期 3 个月)

- 试剂一:** 标准品, 粉剂×3 支, 4℃ 保存。用时取标准品一支加生理盐水 10ml 混匀配成 1μmol/ml 标准品应用液, 现用现配。
- 试剂二:** 底物粉剂×2 支, 用时每支粉剂加生理盐水 20ml, 现用现配, 配好后 4℃ 保存两周。
- 试剂三:** 显色剂贮备液, 3ml×1 支, 4℃ 保存, 用时以生理盐水 1: 9 稀释, 配成显色应用液。需多少配多少, 也可以一次配成 30ml, 避光冷藏可保存 3 个月。
- 试剂四:** 抑制剂, 液体×1 支。打开后可以装在空的小塑料瓶内 (附空瓶一只), 室温保存。
- 试剂五:** 透明剂, 液体 6ml×1 支。室温保存。
- 生理盐水:** 60ml×2 瓶, 室温保存。

三、所需仪器耗材及试剂:

含 412nm 波长的分光光度计及 0.5cm 光径比色皿 (或酶标仪及 96 孔板)、37℃ 水浴锅或恒温箱、台式低速离心机、各种规格移液器、双蒸水、涡旋混匀器、试管或离心管、蛋白测定试剂 (组织及细胞样本用, 本公司有售)。

四、操作过程:

1、样本前处理:

- 组织样本:**准确称取组织重量,按重量(g): 体积(ml)=1: 9 的比例,加入 9 倍体积的生理盐水,冰水浴条件下机械匀浆, 2500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清, 即为 10%匀浆上清液;
- 血清样本:** 取抗凝全血 1000~1500 转/分钟, 离心 10 分钟, 取上层血浆。也可测血清, 测时将血清(浆)用生理盐水 1: 19 稀释;
- 全血样本:** 取 0.1ml 抗凝全血加生理盐水至 10ml 按 1: 99 稀释, 取 a ml(一般取 0.1ml)检测, 每个样本取样前必须充分混匀。

2、操作步骤:

	空白管	标准管	测定管	对照管
样本(ml)			a	
1μmol/ml 标准品应用液(ml)		a		
双蒸水(ml)	a			
底物缓冲液(ml)	0.5	0.5	0.5	0.5
显色应用液(ml)	0.5	0.5	0.5	0.5
混匀, 37℃准确反应 6 分钟。				
抑制剂(ml)	0.03	0.03	0.03	0.03
透明剂(ml)	0.1	0.1	0.1	0.1
样本(ml)				a
混匀, 静置 15 分钟, 波长 412nm, 0.5 cm光径, 双蒸水调零, 测定各管吸光度值。				

[注]: * a 为参考取样量(1、大鼠血清测试前用生理盐水 20 倍稀释, 参考取样量为 30~50μL; 2、10%脑组织匀浆的参考取样量为 30~50μL; 3、1: 99 稀释后的全血稀释液取 0.1ml)。

** 对照管必须每个样本都做, 因为每个样本对照管的吸光度差异较大。

五、定义及计算公式:

1、组织匀浆中丁酰胆碱酯酶的计算:

定义: 每毫克组织蛋白样本在 37℃保温 6 分钟, 水解反应体系中 1μmol 基质为 1 单位。

$$\text{B-CHE活力 (U/mgprot)} = \frac{\text{测定OD值} - \text{对照OD值}}{\text{标准OD值} - \text{空白OD值}} \times \frac{\text{标准品浓度}}{(1\mu\text{mol/ml})} \div \frac{\text{待测样本蛋白浓度}}{(\text{mgprot/ml})}$$

2、血清中丁酰胆碱酯酶的计算:

定义: 每毫升血清样本在 37℃保温 6 分钟, 水解反应体系中 1μmol 基质为 1 单位。

$$\text{B-CHE活力 (U/ml)} = \frac{\text{测定OD值} - \text{对照OD值}}{\text{标准OD值} - \text{空白OD值}} \times \frac{\text{标准品浓度}}{(1\mu\text{mol/ml})} \times \frac{\text{样本测试前}}{\text{稀释倍数}}$$

3、全血中丁酰胆碱酯酶的计算:

定义: 每毫升全血在 37℃保温 6 分钟, 水解反应体系中 1μmol 基质为 1 单位。

$$\text{B-CHE活力 (U/ml)} = \frac{\text{测定OD值} - \text{对照OD值}}{\text{标准OD值} - \text{空白OD值}} \times \frac{\text{标准品浓度}}{(1\mu\text{mol/ml})} \times \frac{\text{样本测试前}}{\text{稀释倍数}}$$

六、本法优点：

- 1、灵敏度高，微量样品即可测出丁酰胆碱酯酶的水平。可以分型，另有配套试剂盒可测乙酰胆碱酯酶。
- 2、**测试前请仔细阅读说明书, 预试后再进行批量实验, 否则由此导致的后果用户自行承担!**
- 3、方法简便快速，准确稳定，不需气相色谱等高级仪器，只要一般分光光度计即可。