

胆碱酯酶（CHE）测定试剂盒说明书(精简版)

(货号：A023-1-1 比色法 50 管/48 样)

免责声明：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!

一、测定原理：

血液及组织中 CHE 使乙酰胆碱水解成胆碱和乙酸，未被分解的剩余乙酰胆碱与羟胺作用生成乙酰羟胺，再与铁离子在酸性溶液中形成棕色复合物，根据颜色深浅推算出酶的活力。

二、试剂组成与配制：(试剂盒有效期 6 个月)

试剂一：溶液 60mL×1 瓶，室温保存。

试剂二：乙酰胆碱粉剂×1 支，-20℃保存，稀释液 5mL×1 瓶，4℃保存；**80μmol/mL 乙酰胆碱底物贮备液**的配制：将 1 支乙酰胆碱粉剂倒入 5mL 稀释液中溶解，4℃保存；**8μmol/mL 乙酰胆碱应用液**的配制：按 **80μmol/mL 乙酰胆碱底物贮备液：试剂一 = 1：9** 的比例进行稀释，现用现配，用多少配多少。

试剂三：甲粉×1 支；乙液 30 mL×1 瓶；丙液 30 mL×1 瓶；室温保存。测试前将甲粉倒入乙液中，充分摇匀，根据需要量将甲乙混合液与丙液等量混合，充分混匀，配成**试剂三应用液**，现用现配。

试剂四：溶液 30 mL×1 瓶，室温保存。

试剂五：溶液 20 mL×1 瓶，室温保存。

试剂六：粉剂×1 瓶,稀释液 30mL×1 瓶, 4℃避光保存。测试前将稀释液倒入粉剂中,充分混匀溶解后备用。

三、所需仪器耗材及试剂：

含 520nm 波长的分光光度计及 1cm 光径比色皿（或酶标仪及 96 孔板）、37℃水浴锅、台式低速离心机、各种规格移液器、双蒸水、生理盐水（0.9%）或 PBS（0.1M）、涡旋混匀器、离心管、蛋白测定试剂（组织及细胞样本用，本公司有售）。

四、操作步骤：

(一)、血清（浆）、组织的测定：

1、样本前处理：

血清（浆）：直接进行检测。

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 倍的生理盐水,冰水浴条件下匀浆,制成 10%的匀浆液，2500 转/分，离心 10 分钟，取上清液待测。同时用 BCA 法或考马斯亮蓝法试剂测定组织蛋白。

2、操作表：

	空白管	对照管	测定管
待测样本（mL）			0.05
双蒸水（mL）	0.30	0.05	
8μmol/mL 乙酰胆碱应用液（mL）		0.25	0.25
试剂一（mL）	0.5	0.5	0.5
混匀，37℃水浴 20 分钟			
试剂三应用液（mL）	1.0	1.0	1.0
试剂四（mL）	0.5	0.5	0.5
试剂五（mL）	0.25	0.25	0.25
试剂六（mL）	0.5	0.5	0.5
混匀，3500 转/分离心 10 分钟，取上清，520nm，1cm 光径，空白管调零，测各管吸光值。			

3、血清样本计算：

定义：每毫升血清在 37℃ 和底物作用 20 分钟，分解 1μmol 乙酰胆碱为 1 个活力单位。

计算公式：

$$\text{血清CHE活力 (U/mL)} = \frac{A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}}{A_{\text{对照}}} \times C_{\text{标准}} \times V_{\text{标准}} \times \frac{1}{V_{\text{样}}}$$

C_{标准}：乙酰胆碱浓度，8μmol/mL； **V_{标准}：**乙酰胆碱用量，0.25mL； **V_样：**样本取样量，0.05mL。

4、组织中 CHE 的计算：

定义：每毫克蛋白的组织在 37℃ 和底物作用 20 分钟，分解 1μmol 乙酰胆碱为 1 个活力单位。

计算公式：

$$\text{组织CHE活力 (U/mgprot)} = \frac{A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}}{A_{\text{对照}}} \times C_{\text{标准}} \times V_{\text{标准}} \times \frac{1}{V_{\text{样}} \times \text{Cpr}}$$

C_{标准}：乙酰胆碱浓度，8μmol/mL； **V_{标准}：**乙酰胆碱用量，0.25mL； **V_样：**样本取样量，0.05mL； **Cpr：**组织匀浆蛋白浓度，mgprot/mL（prot 指蛋白）。

(二)、全血的测定：

1、样本前处理：轻轻颠倒肝素抗凝全血使之均匀后取 0.1mL，再加入 0.4mL 冷双蒸水，充分混匀 1 分钟，静置 15 分钟，制备的 5 倍溶血液对光观察澄清透亮待测。

2、操作表：

	空白管	对照管	测定管
待测样本（mL）			0.1
双蒸水（mL）	0.35		
8μmol/mL 乙酰胆碱应用液（mL）		0.25	0.25
试剂一（mL）	0.5	0.5	0.5
混匀，37℃水浴 20 分钟			
试剂三应用液（mL）	1.0	1.0	1.0
试剂四（mL）	0.5	0.5	0.5
试剂五（mL）	0.25	0.25	0.25
试剂六（mL）	0.5	0.5	0.5
待测样本（mL）		0.1	
混匀，3500 转/分离心 10 分钟，取上清，520nm，1cm 光径，空白管调零，测各管吸光值。			

3、计算：

定义：每毫升全血在 37℃ 和底物作用 20 分钟，分解 1μmol 乙酰胆碱为 1 个活力单位。

计算公式：

$$\text{血清CHE活力 (U/mL)} = \frac{A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}}{A_{\text{对照}}} \times C_{\text{标准}} \times V_{\text{标准}} \times \frac{1}{V_{\text{样}}} \times N$$

C_{标准}：乙酰胆碱浓度，8μmol/mL； **V_{标准}：**乙酰胆碱用量，0.25mL； **V_样：**样本取样量，0.1mL； **N：**样本测试前稀释倍数。