

# 胆碱酯酶 (CHE) 测定试剂盒

(货号: BC115 比色法 50 管/48 样)

## 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, -20℃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。测试前将粉剂 1 支用 1 瓶稀释液溶解, 充分混匀溶解后备用。

## 三、所需仪器及试剂:

可见光分光光度计及 1cm 光径比色皿, 37℃水浴锅, 离心机, 涡旋混匀器, 蒸馏水, 蛋白测定试剂 (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):** 直接取样检测。

**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(蛋白测定试剂盒本公司有售)。

#### 2、操作表:

	空白管	对照管	测定管
待测样本 (mL)			0.05
蒸馏水 (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 A。			

### 3、血清样本计算：

**定义：**每毫升血清在 37°C 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：**

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

### 4、组织样本计算：

**定义：**每毫克蛋白的组织在 37°C 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：**

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

**C<sub>标准</sub>：**乙酰胆碱浓度，8μmol/mL；

**V<sub>标准</sub>：**乙酰胆碱用量，0.25mL；

**V<sub>样</sub>：**样本取样量，0.05mL；

**C<sub>pr</sub>：**组织匀浆蛋白浓度，mgprot/mL (prot 指蛋白)。

### 5、计算举例：

**例 1:**取大鼠血清按操作表操作，测得对照管 OD 值为 0.360，测定管 OD 值为 0.203，则计算结果如下：

$$\begin{aligned} \text{血清CHE活力 (U/mL)} &= \frac{0.360 - 0.203}{0.360} \times 8 \times 0.25 \times \frac{1}{0.05} \\ &= 17.45\text{U/mL} \end{aligned}$$

**例 2：**取 10%大鼠脑匀浆按操作表操作，测得对照管 OD 值为 0.360，测定管 OD 值为 0.214，同时测得 10%大鼠脑匀浆蛋白浓度为 5.74mg/mL，则计算如下：

$$\begin{aligned} \text{组织CHE活力 (U/mgprot)} &= \frac{0.360 - 0.214}{0.360} \times 8 \times 0.25 \times \frac{1}{0.05} \div 5.74 \\ &= 2.83\text{U/mgprot} \end{aligned}$$

## (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，与 0.4mL 冷蒸馏水混合，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
蒸馏水 (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°C 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 A。			

### 3、计算及举例：

**定义：**每毫升全血在 37°C 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：

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

**C<sub>标准</sub>**：乙酰胆碱浓度，8μmol/mL；

**V<sub>标准</sub>**：乙酰胆碱用量，0.25mL；

**V<sub>样</sub>**：样本取样量，0.1mL；

**N**：样本测试前稀释倍数。

**举例：**取新鲜鸭全血按操作步骤操作，测得对照管 OD 值为 0.531，测定管 OD 值为 0.435，则计算结果如下：

$$\begin{aligned} \text{全血CHE活力 (U/mL)} &= \frac{0.531 - 0.435}{0.531} \times 8 \times 0.25 \times \frac{1}{0.1} \times 5 \\ &= 18.08\text{U/mL} \end{aligned}$$