

# 丁酰胆碱酯酶(B-CHE)测定试剂盒

(货号: BC121 比色法 50 管/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。取标准品一支加生理盐水 10mL 混匀配成 **1 $\mu$ mol/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×2 支, 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、所需仪器及试剂:

可调 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), 双蒸水(或蒸馏水), 涡旋混匀器, 蛋白测定试剂(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	
1 $\mu$ mol/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，分光光度计测定各管吸光度值 A（或每管取 200μL 加到 96 孔板中，412nm 处酶标仪读数）。

注:上表中 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°C 保温 6 分钟，水解反应体系中 1μmol 基质为 1 单位 (U)。

$$B - \text{CHE活力} \left( \frac{U}{\text{mgprot}} \right) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \div \text{Cpr}$$

### 2、血清（或全血）中丁酰胆碱酯酶的计算：

定义：每毫升血清（或全血）样本在 37°C 保温 6 分钟，水解反应体系中 1μmol 基质为 1 单位 (U)。

$$B - \text{CHE活力} \left( \frac{U}{\text{mL}} \right) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \div N$$

以上公式中，

C 标准：标准液浓度，1μmol/mL；

Cpr：组织匀浆蛋白浓度，mgprot/mL (prot 指蛋白)；

N：样本测试前稀释倍数。

## 六、本法特点：

- 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、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。
- 3、酶标仪读数时孔板中不要有气泡。
- 4、如无对应的波长，可选择就近的波长（但尽量不要误差 10nm）。