

# 胆碱酯酶（CHE）测试盒

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：

试剂一：溶液 60ml×1 瓶，室温保存 6 个月。

试剂二：乙酰胆碱粉剂×1 支，-20℃保存 6 个月，稀释液 5ml×1 瓶，4℃保存 6 个月。

80mol/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。

8mol/ml 乙酰胆碱应用液的配制：按贮备液：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 6 个月。

试剂三应用液的配制：每次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 6 个月。

试剂五：溶液 20 ml×1 瓶，室温保存 6 个月。

试剂六：粉剂×1 瓶，稀释液 30ml×1 瓶，4℃避光保存 6 个月。测试前将稀释液倒入粉剂中，充分混匀溶解后备用。

## 三、操作步骤：

### （一）、血清（浆）、组织的测定：

1、样本前处理：样本处理详见说明书或本公司官网-技术文章部分关于样本处理的说明。测定组织和细胞同时需要测定蛋白浓度。可用总蛋白定量测试盒（考马斯亮蓝法）或者总蛋白定量测试盒(BCA 法)进行蛋白浓度的测定。

### 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	
8 mol/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：

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

#### ②、计算公式：

$$\text{血清 CHE 活力 (U/ml)} = \frac{\text{对照 OD} - \text{测定 OD}}{\text{对照 OD}} \times \frac{\text{标准品浓度}}{\text{量}} \times \frac{1\text{ml}}{\text{取样量 (0.05ml)}}$$

### 4、组织中 CHE 的计算：

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

#### ②、计算公式：

$$\text{组织 CHE 活力 (U/mgprot)} = \frac{\text{对照 OD} - \text{测定 OD}}{\text{对照 OD}} \times \frac{\text{标准品浓度}}{\text{量}} \times \frac{1\text{ml}}{\text{取样量 (0.05ml)}} \div \text{待测样本蛋白浓度 (mgprot/ml)}$$

\*U/mgprot=CHE 活力单位/毫克蛋白

## (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		
8 mol/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、计算及举例：

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

②、计算公式：

$$\begin{aligned}
 & \text{全血 CHE 活力} = \frac{\text{对照 OD} - \text{测定 OD}}{\text{对照 OD}} \times \text{标准品浓度} \times \frac{1\text{ml}}{\text{标准品用量}} \times \text{样本测定前稀释倍数} \\
 & \text{(U/ml)} \qquad \qquad \qquad \text{对照 OD} \qquad \text{(8 } \mu \text{ mol/ml)} \quad \text{(0.25ml 取样量 (0.1ml))}
 \end{aligned}$$