

丁酰胆碱酯酶(B-CHE)测试盒

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:

试剂一:标准品,粉剂×3支,4℃保存。

1 μ mol/ml 标准品应用液的配制:取标准品一支加生理盐水 10ml 混匀,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。保存期 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、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 μ 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,测定各管吸光度值。				

注、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 30~50 μ l。
- ②、10%脑组织匀浆的参考取样量为 30~50 μ l。
- ③、1：99 稀释后的全血稀释液取 0.1ml。

四、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 1 μ mol 基质为 1 单位。

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

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 1 μ mol 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 1 μ mol 基质为 1 单位。

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