

丁酰胆碱酯酶（BchE）活性检测试剂盒（微量法）

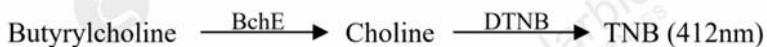
产品货号：BA2119

产品规格：100T/96S

产品简介：

丁酰胆碱酯酶(Butyrylcholinesterase, BchE, EC3.1.1.8), 又称血浆胆碱酯酶, 假性胆碱酯酶, 是一种丝氨酸水解酶, 由肝脏合成后进入血液, 几乎存在于所有动物组织中。BchE结构与乙酰胆碱酯酶(AchE)相似, 但底物特异性和抑制剂敏感性不同。与AchE相比, BchE能够有效水解较大的胆碱酯, 如丁酰胆碱和苯甲酰胆碱, 而且可以清除有机磷类农药、氨基甲酸酯类农药等神经毒剂的毒害作用。有研究表明, BchE可作为阿尔茨海默病治疗的重要靶点。

BchE催化丁酰胆碱水解生成胆碱, 胆碱与二硫对硝基苯甲酸(DTNB)作用生成5-巯基-硝基苯甲酸(TNB); TNB在412nm处有吸收峰, 通过测定412nm吸光度增加速率, 计算BchE活性。



注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。

试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体125mL×1瓶	2-8°C
试剂二	粉剂×1瓶	-20°C
试剂三	液体12mL×1瓶	2-8°C

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入 12mL 试剂一，充分溶解，-20°C 分装保存 4 周，避免反复冻融。

所需的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、分析天平、水浴锅/恒温培养箱、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理(可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

1. 组织样本：按照组织质量(g):试剂一体积(mL)=1:5~10 比例加入试剂一(建议称取 0.1g 样本, 加入 1.0mL 试剂一), 冰浴匀浆后, 于 4°C, 12000rpm 离心 10min, 弃沉淀, 取上清液置于冰上待测。
2. 血清/血浆等液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清置于冰上待测。
3. 细胞/细菌：按照细胞/细菌数量 10^4 个：试剂一体积(mL)500~1000:1 的比例(建议 500 万细胞/细菌加入 1mL 试剂一), 冰浴超声波破碎细胞/细菌(功率 300w, 超声 3s, 间隔 7s, 总时间 3min), 于 4°C, 12000rpm 离心 10min, 弃沉淀, 取上清液置于冰上待测。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 412nm, 分光光度计蒸馏水调零。
2. 操作表：(在微量玻璃比色皿/96 孔板中加入下列试剂)

试剂名称 (μL)	测定管	空白管
样本	10	-
蒸馏水	-	10
试剂二	100	100
试剂三	100	100



郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

扫一扫 加微信

立即充分混匀后于412nm处测定10s时的吸光值A1，迅速置于37°C水浴或恒温培养箱5min(酶标仪有控温功能可将温度调至37°C)，拿出迅速擦干测定5min10s时的吸光值A2。计算 ΔA 测定=A测定-2-A测定1， ΔA 空白=A空白2-A空白1， ΔA =A测定-A空白。空白管只需测定1-2次。

三、BchE活性计算

A、用微量玻璃比色皿测定：

1. 按照蛋白浓度计算

活性单位定义：每mg蛋白每分钟催化产生1nmol TNB为1个酶活单位。

$$BchE \text{活性}(U/mg \text{ prot}) = [\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T \times F = 308.8 \times \Delta A \div C_{\text{pr}} \times F.$$

2. 按照样本质量计算

活性单位定义：每g组织每分钟催化产生1nmol TNB为1个酶活单位。

$$BchE \text{活性}(U/g \text{ 质量}) = [\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{总}}) \div T \times F = 308.8 \times \Delta A \div W \times F.$$

3. 按照血清/血浆等液体体积计算

活性单位定义：每mL血清/血浆每分钟催化产生1nmol TNB为1个酶活单位。

$$BchE \text{活性}(U/mL) = [\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T \times F = 308.8 \times \Delta A \div F.$$

4. 按细菌/细胞数量计算

活性单位定义：每万个细胞每分钟催化产生1nmol TNB为1个酶活单位。

$$BchE \text{活性}(U/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{总}}) \div T \times F = 308.8 \times \Delta A \div N \times F$$

ε : TNB摩尔消光系数, $13.6 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d: 比色皿光径, 1cm; V_{反总}: 反应体系总体积, $0.21 \text{ mL} = 2.1 \times 10^{-4} \text{ L}$; 10^9 : 单位换算系数, $1 \text{ mol} = 1 \times 10^9 \text{ nmol}$; V_样: 反应体系加入样本体积, 0.01 mL ; V_总: 加入试剂一体积, 1 mL ; C_{pr}蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; T: 反应时间, 5min; F: 样本稀释倍数; N: 细菌/细胞数量, 以万计。

B、用96孔板测定：

将上述公式中的d=1cm改为d=0.6cm进行计算即可。

注意事项：

1. 为保证结果准确, 请严格控制反应时间, 建议两人进行实验, 一人加样, 一人计时。
2. 如果 ΔA 测定接近 ΔA 空白, 可以增加样本量后再进行测定; 如果 A2 测定大于 1 或 ΔA 测定大于 0.7, 建议将样本上清用试剂一适当稀释后再进行测定。注意同步修改计算公式。

实验实例：

1. 取 0.1018g 大鼠肝脏样本, 加入 1mL 试剂一进行冰浴匀浆, 离心后上清液用试剂一稀释 2 倍, 按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算: ΔA 测定=A 测定 2-A 测定 1=0.636-0.417=0.219, ΔA 空白=A 空白 2-A 空白 1=0.188-0.180=0.008, ΔA = ΔA 测定- ΔA 空白=0.211, 按样本质量计算得(光径为 0.6cm 带入计算):

$$BchE \text{活性}(U/g \text{ 质量}) = [\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{总}}) \div T \times F = 2133.49 \text{ U/g 质量}.$$

2. 取人血清样本, 用试剂一稀释 16 倍, 按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算: ΔA 测定=A 测定 2-A 测定 1=0.960-0.299=0.661, ΔA 空白=A 空白 2-A 空白 1=0.188-0.180=0.008, ΔA = ΔA 测定- ΔA 空白=0.653, 按液体体积计算得(光径为 0.6cm 带入计算):

$$BchE \text{活性}(U/mL) = [\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T \times F = 5377.237 \text{ U/mL}.$$



郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

扫一扫 加微信