

丁酰胆碱酯酶抑制剂活性检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA2121

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。与乙酰胆碱酯酶(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抑制剂被用于改善阿尔茨海默病患者记忆力减退、认知功能障碍等病征。

BchE催化丁酰胆碱水解生成胆碱, 胆碱与二硫代硝基苯甲酸(DTNB)作用生成5-巯基-硝基苯甲酸(TNB), BchE抑制剂通过抑制BchE活性, 减少丁酰胆碱的水解。TNB在412nm处有吸收峰, 可通过测定412nm处吸光度的变化, 计算BchE抑制剂活性。



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。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×2支	-20℃
试剂二	液体40mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体35mL×1瓶	2-8℃
试剂四	粉剂×1瓶	-20℃
试剂五	液体1mL×1支	-20℃

溶液的配制：

1. 试剂一：临用前取1支试剂一, 加入1.8mL蒸馏水, 充分溶解, 用不完的试剂-20℃分装后可保存4周, 避免反复冻融(该试剂为冻干试剂, 可能存在不同瓶间肉眼观察试剂量相差较大甚至量很少的现象, 此现象不影响使用, 实际质量相同)。
2. 试剂四：临用前加入17mL试剂二, 充分溶解, 用不完的试剂-20℃可分装保存4周, 避免反复冻融。
3. 试剂五：10mmol/L利凡斯的明溶液。临用前取15μL 10mmol/L利凡斯的明溶液, 加入985μL蒸馏水, 配制成0.15mmol/L利凡斯的明溶液, 现用现配(此试剂用于阳性管实验, 选做)。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、天平、烘箱、粉碎仪/研钵/匀浆器、30-50目筛、超声清洗仪、离心机、水浴锅/恒温培养箱、1mL玻璃比色皿、可调式移液枪、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：将样本烘干至恒重, 粉碎, 过30-50目筛之后, 称取约0.1g, 加入1mL提取液, 用超声提取法进行提取, 超声功率300W, 60℃, 提取30min。12000rpm, 25℃, 离心10min, 取上清, 用提取液定容至1mL, 待测。
2. 粉剂样本：称取适量样本, 加入适量提取液, 配制适宜浓度的溶液待测。

注：若粉剂样本不溶于提取液, 可先用合适的溶剂溶解, 配制100×或者更大浓度的溶液, 再用提取液稀释至1×浓度。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min以上, 调节波长至412nm, 蒸馏水调零。
2. 操作表：（在1mL玻璃比色皿中加入下列试剂）

试剂试剂 (μL)	空白管1	空白管2	测定管	阳性管 (选做)
-----------	------	------	-----	----------



扫一扫 加微信

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

试剂一	50	-	50	50
试剂二	250	300	250	250
提取液	50	50	-	-
样本	-	-	50	-
试剂五	-	-	-	50
混匀，25°C避光孵育10min				
试剂三	500	500	500	500
试剂四	250	250	250	250
充分混匀，于412nm处测定10s时的吸光值A，迅速置于37°C准确反应5min，测定5min10s时的吸光值A'，分别记为A _{空白1} 、A _{空白2} 、A _{测定} 、A _{阳性} 和A' _{空白1} 、A' _{空白2} 、A' _{测定} 、A' _{阳性} ，计算 $\Delta A_{空白} = (A'_{空白1} - A_{空白1}) - (A'_{空白2} - A_{空白2})$ ， $\Delta A_{测定} = (A'_{测定} - A_{测定}) - (A'_{空白2} - A_{空白2})$ ， $\Delta A_{阳性} = (A'_{阳性} - A_{阳性}) - (A'_{空白2} - A_{空白2})$ 。空白管1和空白管2只需做1-2次。				

三、BchE 抑制剂活性计算

1. 抑制率计算

BchE 抑制剂抑制率(%)=($\Delta A_{空白} - \Delta A_{测定}$) \div $\Delta A_{空白} \times 100\%$ 。

2. IC₅₀ 计算

IC₅₀，即抑制剂半抑制浓度。对于确定对 BchE 有抑制作用的样本，可配制成适当的浓度梯度，分别以样本浓度为横坐标，以抑制率为纵坐标作抑制曲线，以此计算得到抑制率为 50%时的样本浓度，即 IC₅₀。

注意事项：

1. 为保证实验结果的准确性和稳定性，请严格控制反应时间和操作时间。
2. 样本吸光度 A'_{测定} 大于 1.5 或 $\Delta A_{测定}$ 接近 $\Delta A_{空白}$ 时，建议在样本处理步骤增加组织样本比例或将粉剂样本配制成更高浓度的溶液再进行测定。当 $\Delta A_{测定}$ 小于 0.01 时，可以将样本用提取液稀释后再进行测定。
3. 若用于比较不同试剂、提取物、药物或组织对 BchE 的抑制程度，必须将试剂、提取物、药物或组织匀浆配制成相同浓度进行比较。

实验实例：

1. 取 0.1005g 柚果皮样木(烘干)，加入 1mL 提取液进行超声提取，离心后取上清，按照测定步骤操作，用 1mL 玻璃比色皿测得计算： $\Delta A_{空白} = (A'_{空白1} - A_{空白1}) - (A'_{空白2} - A_{空白2}) = (1.372 - 0.205) - (0.166 - 0.112) = 1.113$ ， $\Delta A_{测定} = (A'_{测定} - A_{测定}) - (A'_{空白2} - A_{空白2}) = (1.117 - 0.485) - (0.166 - 0.112) = 0.578$ ，计算抑制率得：
BchE 抑制剂抑制率(%)=(1.113-0.578) \div 1.113 \times 100%=48.068%。
2. 取 0.1014g 柿果皮样本(烘干)，加入 1mL 提取液进行超声提取，离心后取上清，稀释 16 倍后按照测定步骤操作，用 1mL 玻璃比色皿测得计算： $\Delta A_{空白} = (A'_{空白1} - A_{空白1}) - (A'_{空白2} - A_{空白2}) = (1.372 - 0.205) - (0.166 - 0.112) = 1.113$ ， $\Delta A_{测定} = (A'_{测定} - A_{测定}) - (A'_{空白2} - A_{空白2}) = (0.706 - 0.149) - (0.166 - 0.112) = 0.503$ ，计算抑制率得：
BchE 抑制剂抑制率(%)=(1.113-0.503) \div 1.113 \times 100%=54.807%。
3. 取 50 μ L 0.15mmol/L 利凡斯的明溶液，按照测定步骤操作，用 1mL 玻璃比色皿测得计算： $\Delta A_{空白} = (A'_{空白1} - A_{空白1}) - (A'_{空白2} - A_{空白2}) = (1.372 - 0.205) - (0.166 - 0.112) = 1.113$ ， $\Delta A_{测定} = (A'_{测定} - A_{测定}) - (A'_{空白2} - A_{空白2}) = (0.838 - 0.171) - (0.166 - 0.112) = 0.613$ ，计算抑制率得：
BchE 抑制剂抑制率(%)=(1.113-0.613) \div 1.113 \div 100%=44.924%。



扫一扫 加微信

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