

## 丁酰胆碱酯酶 (BchE) 活性检测试剂盒 (微量法)

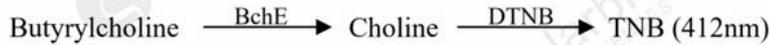
产品货号: BA2119

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<sup>4</sup> 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	-



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

蒸馏水	-	10
试剂二	100	100
试剂三	100	100

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 $\Delta A$ 测定=A测定2-A测定1， $\Delta A$ 空白=A空白2-A空白1， $\Delta A=A$ 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活性(U/mg prot)=[ $\Delta A \div (\xi \times d) \times V$ 反总 $\times 10^9$ ] $\div (Cpr \times V$ 样) $\div T \times F = 308.8 \times \Delta A \div Cpr \times F$ 。

##### 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活性(U/g质量)=[ $\Delta A \div (\xi \times d) \times V$ 反总 $\times 10^9$ ] $\div (W \times V$ 样 $\div V$ 样总) $\div T \times F = 308.8 \times \Delta A \div W \times F$ 。

##### 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活性(U/mL)=[ $\Delta A \div (\xi \times d) \times V$ 反总 $\times 10^9$ ] $\div V$ 样 $\div T \times F = 308.8 \times \Delta A \times F$ 。

##### 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活性(U/ $10^4$ cell)=[ $\Delta A \div (\xi \times d) \times V$ 反总 $\times 10^9$ ] $\div (N \times V$ 样 $\div V$ 样总) $\div T \times F = 308.8 \times \Delta A \div N \times F$

$\xi$ : TNB摩尔消光系数,  $13.6 \times 10^3$  L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; V反总: 反应体系总体积,  $0.21\text{mL} = 2.1 \times 10^{-4}$  L;  $10^9$ : 单位换算系数,  $1\text{mol} = 1 \times 10^9$  nmol; V样: 反应体系加入样本体积, 0.01mL; V样总: 加入试剂一体积, 1mL; Cpr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 $\Delta A$ 测定接近 $\Delta A$ 空白，可以增加样本量后再进行测定；如果A2测定大于1或 $\Delta A$ 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： $\Delta A$ 测定=A测定2-A测定1=0.636-0.417=0.219， $\Delta A$ 空白=A空白2-A空白1=0.188-0.180=0.008， $\Delta A = \Delta A$ 测定- $\Delta A$ 空白=0.211，按样本质量计算得（光径为0.6cm带入计算）：

BchE活性(U/g质量)=[ $\Delta A \div (\xi \times d) \times V$ 反总 $\times 10^9$ ] $\div (W \times V$ 样 $\div V$ 样总) $\div T \times F = 2133.49$  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： $\Delta A$ 测定=A测定2-A测定1=0.960-0.299=0.661， $\Delta A$ 空白=A空白2-A空白1=0.188-0.180=0.008， $\Delta A = \Delta A$ 测定- $\Delta A$ 空白=0.653，按液体体积计算得(光径为0.6cm带入计算)：

BchE活性(U/mL)=[ $\Delta A \div (\xi \times d) \times V$ 反总 $\times 10^9$ ] $\div V$ 样 $\div T \times F = 5377.237$  U/mL。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com