

# 丁酰胆碱酯酶 (BchE) 活性检测试剂盒 (可见分光光度法)

产品货号: BA2118

产品规格: 50T/48S

## 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100mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	-20℃
试剂三	液体30mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制:

1. 试剂二: 临用前加入 30mL 试剂一, 充分溶解, -20℃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、低温离心机、分析天平、水浴锅/恒温培养箱、1mL玻璃比色皿、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℃, 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℃, 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)

试剂名称 (μL)	测定管	空白管
样本	50	-
蒸馏水	-	50
试剂二	500	500
试剂三	500	500



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

立即充分混匀后于412nm处测定10s时的吸光值A1，迅速置于37℃水浴或恒温培养箱5min，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

#### 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,  $1.05\text{mL} = 1.05 \times 10^{-3}$  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, 0.05mL;  $V_{样总}$ : 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。

### 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 $A_2$ 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4倍，按照测定步骤操作，用1mL玻璃比色皿测得计算： $\Delta A$ 测定=A测定2-A测定1=0.6807-0.3913=0.2894， $\Delta A$ 空白=A空白2-A空白1=0.3552-0.2931=0.0621， $\Delta A=\Delta A$ 测定- $\Delta A$ 空白=0.2273，按样本质量计算得：

$BchE$ 活性(U/g质量)=[ $\Delta A \div (\xi \times d) \times V_{反总} \times 10^9$ ]  $\div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div T \times F = 2757.966$  U/g质量。

2. 取马血清样本，用试剂一稀释64倍，按照测定步骤操作，用1mL玻璃比色皿测得计算： $\Delta A$ 测定=A测定2-A测定1=0.5100-0.3436=0.1664， $\Delta A$ 空白=A空白2-A空白1=0.3552-0.2931=0.0621， $\Delta A=\Delta A$ 测定- $\Delta A$ 空白=0.1043，按液体体积计算得：

$BchE$ 活性(U/mL)=[ $\Delta A \div (\xi \times d) \times V_{反总} \times 10^9$ ]  $\div V_{样} \div T \times F = 2061.302$  U/mL。



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