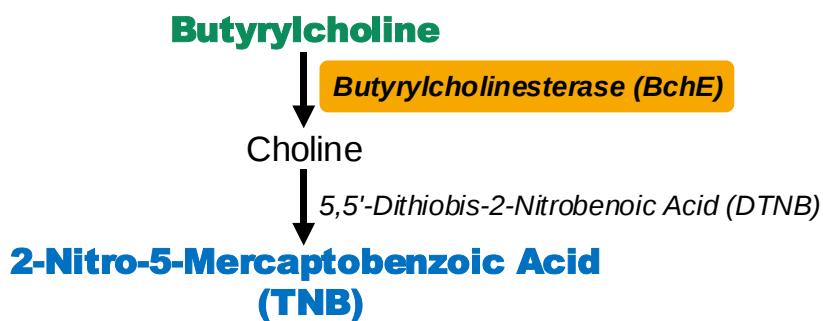




丁酰胆碱酯酶 (BchE) 活性检测试剂盒
Butyrylcholinesterase (BchE) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



丁酰胆碱酯酶 (BchE) 活性检测试剂盒

Butyrylcholinesterase (BchE) Activity Assay Kit

一、产品描述

丁酰胆碱酯酶 (BchE) 是一种丝氨酸水解酶, 主要由肝脏合成, 并广泛分布于血浆、神经肌肉接头突触、神经胶质细胞和白质轴突中, 其主要功能是催化多种胆碱酯类化合物的水解反应, 与乙酰胆碱酯酶 (AChE) 结构相似但具有不同的底物特异性和抑制剂敏感性, 在肝脏功能评估、有机磷中毒诊断、心血管疾病预后和神经退行性疾病等研究中发挥着重要作用。

丁酰胆碱酯酶能够催化丁酰胆碱水解为胆碱, 胆碱与二硫对硝基苯甲酸反应生成 5-巯基-硝基苯甲酸 (TNB), 产物在 412 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征丁酰胆碱酯酶活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 125 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C保存	使用前加入 12 mL 试剂一充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月, 避免反复冻融)
试剂三	液体 12 mL×1 瓶	4°C保存	-

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①组织: 按照组织质量 (g): 试剂一体积 (mL) 为 1: (5-10) 的比例 (建议称取 0.1 g 组织, 加入 1 mL 试剂一) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 12000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 按照细菌或细胞数量 (10^4 个): 试剂一体积 (mL) 为 (500-1000): 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 试剂一) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 300 W, 超声 3 s, 间隔 7 s, 总时间 3 min), 4°C 12000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

③血清 (浆)、培养液等液体样本: 直接测定或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 412 nm。

②在 96 孔板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	10	-
蒸馏水	-	10
试剂二	100	100
试剂三	100	100

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 412 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②37°C 恒温准确反应 300 s，测定 310 s（总时间）时 412 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。
注：空白组只需测定 1-2 次。

3.丁酰胆碱酯酶（BchE）活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化生成 1 nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$\text{BchE (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{514.71 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化生成 1 nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$\text{BchE (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{514.71 \times \Delta A}{W}$$

③按照细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟催化生成 1 nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$\text{BchE (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{514.71 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟催化生成 1 nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$\text{BchE (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 514.71 \times \Delta A$$

注释：V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，0.21 mL= 2.1×10^{-4} L； ϵ ：TNB 摩尔消光系数， 13.6×10^3 L/mol/cm；d：96 孔板光径，0.6 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间，5 min； 10^9 ：单位换算系数，1 mol= 1×10^9 nmol。

四、注意事项

①若 A2 测定大于 1.0 或 ΔA 测定大于 0.7，建议将粗酶液使用试剂一适当稀释或缩短酶促反应时间（37℃恒温反应时间）后再进行测定；若 ΔA 测定小于 0.02，建议适当增加样本量或延长酶促反应时间（37℃恒温反应时间）后再进行测定，计算时相应修改；

②准确在 10 s 和 310 s 处完成吸光值测定，以保证实验结果的准确性和重复性；若同时测定多个样本时，应使用多道移液器且分批进行测定，以确保组间反应时间一致；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

