



# 丁酰胆碱酯酶(BchE)活性检测试剂盒

中文名称：[丁酰胆碱酯酶\(BchE\)活性检测试剂盒](#)

英文名称：Butyrylcholinesterase Activity Assay

产品包装：盒装

产品规格：50T/48S

储存条件：-20°C

检测方法：可见分光光度法

有效期：6个月

**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。

**产品组成：**

试剂名称	规格	保存条件
------	----	------



试剂一	液体 100 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C保存
试剂三	液体 30mL×1 瓶	-20°C保存

#### 溶液的配制:

1. 试剂二: 临用前加入 30mL 试剂一, 充分溶解, -20°C分装保存 4 周, 避免反复冻融。

#### 产品说明:

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

#### 需自备的仪器和用品:

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)



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. 细菌、细胞: 按照细胞数量 10<sup>4</sup> 个: 试剂一体积(mL)500~1000:1 的比例(建议 500 万细胞加入 1mL 试剂一), 冰浴超声波破碎细胞(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、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(mL)	测定管	空白管
样本	50	-
蒸馏水	-	50
试剂二	500	500
试剂三	500	500

立即充分混匀后于 412nm 处测定 10s 时的吸光值 A<sub>1</sub>, 迅速置于 37°C 水浴或恒温培养箱 5min, 拿出迅速擦干测定 5min10s 时的吸光值 A<sub>2</sub>。计算  $\Delta A_{测定} = A_{测定 2} - A_{测定 1}$ ,  $\Delta A_{空白} = A_{空白 2} - A_{空白 1}$ ,  $\Delta A = \Delta A_{测定} - \Delta A_{空白}$ 。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 1nmolTNB 为 1 个酶活单位。BchE 活性

$$(U/mgprot) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{反总} \times 10^9] \div (Cpr \times V_{样}) \div T \times F = 308.8 \times \Delta A \div Cpr \times F。$$

### 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 1nmolTNB 为 1 个酶活单位。

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

### 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 1nmolTNB 为 1 个酶活单位。BchE 活性(U/mL)=[ $\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9$ ]  $\div V_{\text{样}} \div T \times F = 308.8 \times \Delta A \times F$ 。

### 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 1nmolTNB 为 1 个酶活单位。BchE 活性(U/10<sup>4</sup>cell)=[ $\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9$ ]  $\div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times F = 308.8 \times \Delta A \div N \times F$ 。ε: TNB 摩尔消光系数, 13.6 $\times 10^3$ L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; V<sub>反总</sub>: 反应体系总体积, 1.05mL=1.05 $\times 10^{-3}$ L; 10<sup>9</sup>: 单位换算系数, 1mol=1 $\times 10^9$ nmol; V<sub>样</sub>: 反应体系加入样本体积, 0.05mL; V<sub>样总</sub>: 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。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<sub>2</sub> 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:  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}2} - A_{\text{测定}1} = 0.6807 - 0.3913 = 0.2894$ ,  $\Delta A_{\text{空白}} = A_{\text{空白}2} - A_{\text{空白}1} = 0.3552 - 0.2931 = 0.0621$ ,  $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}} = 0.2273$ , 按样本质量计算得: BchE 活性(U/g 质量)=[ $\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反}}$ ]



总 $\times 10^9$ ] $\div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times F = 2757.966 \text{U/g}$  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:

$\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定} 2} - A_{\text{测定} 1} = 0.5100 - 0.3436 = 0.1664$ ,  $\Delta A_{\text{空白}} = A_{\text{空白} 2} - A_{\text{空白} 1}$

$= 0.3552 - 0.2931 = 0.0621$ ,  $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}} = 0.1043$ , 按液体体积计算得: BchE

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