### (本试剂盒仅供体外研究使用,不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K052-S

产品规格: 50 assays(48 samples)/100 assays(96 samples)

检测仪器: 紫外-可见光分光光度计(520 nm)

# Elabscience®胆碱酯酶(CHE)比色法测试盒

## Cholinesterase (CHE) Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题. 请通过以下方式联系我们:

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。 联系时请提供产品批号(见试剂盒标签),以便我们更高效地为您服务。

### 用途

本试剂盒适用于检测全血、血清(浆)、组织及细胞中的胆碱酯酶活力。

### 检测原理

胆碱酯酶使乙酰胆碱分解为胆碱和乙酸。未被胆碱酯酶水解的乙酰胆碱 与碱性羟胺反应,生成乙酰羟胺,在酸性溶液中反应形成棕红色羟肟酸铁络 合物,颜色深度与剩余乙酰胆碱的量成正比,可比色定量,从而推算出胆碱 酯酶的活性。

本试剂盒在检测组织和细胞样本时,需要测定总蛋白浓度,推荐使用BCA法(货号: E-BC-K318-M)。

### 提供试剂和物品

编号	名称	规格 1(Size 1) (50 assays)	规格 2(Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一	缓冲液	60 mL×1 瓶 60 mL×2 瓶	2-8°C	
(Reagent 1)	(Buffer Solution)	00 IIIL^1 ///	00 IIIL^2 和以	保存6个月
试剂二	底物	   粉剂×1 支	<b>払対&gt;?</b> も	2-8℃避光
(Reagent 2)	(Substrate)	初州^1又	粉剂×2 支	保存6个月
试剂三	稀释液1	5 I v 1 1/15	10 mL×1 瓶	2-8℃
(Reagent 3)	(Diluent 1)	5 mL×1 瓶		保存6个月
试剂四	显色剂 1	松刘(1 祈	松刻(1 新	2-8°C
(Reagent 4)	(Chromogenic Agent 1)	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	保存6个月
试剂五	碱试剂	30 mL×1 瓶	60 mL×1 瓶	2-8°C
(Reagent 5)	(Alkali Reagent)	30 IIIL^1 7/4		保存6个月
试剂六	酸试剂	30 mL×1 瓶	60 mL×1 瓶	2-8°C
(Reagent 6)	(Acid Reagent)	30 IIIL^1 7/4		保存6个月
试剂七	蛋白沉淀剂	20 mL×1 瓶	40 mL×1 瓶	2-8°C
(Reagent 7)	(Protein Precipitator)	20 IIIL^1 ///		保存6个月
试剂八	显色剂 2	   粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8℃避光
(Reagent 8)	(Chromogenic Agent 2)	177 JU ^ 1 TAL	初加入工机。	保存6个月
试剂九	稀释液2	1 mL×1 支	2 mL×1 支	2-8°C
(Reagent 9)	(Diluent 2)	1 IIIL^1 又	2 IIIL×1 支	保存6个月

说明: 试剂严格按上表中的保存条件保存,不同测试盒中的试剂不能混用。 对于体积较少的试剂,使用前请先离心,以免量取不到足够量的试剂。

### 所需自备物品

**仪器:** 紫外-可见光分光光度计(520 nm)、涡旋混匀仪、恒温箱、水浴锅、磁力搅拌器、微量移液器(1000  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 100  $\mu$ L, 10  $\mu$ L)、离心机、烧杯(50 mL)。

耗材: 枪头(1000 µL, 200 µL, 50 µL)、EP管(1.5 mL, 5 mL)、擦镜纸。

试剂: 双蒸水、生理盐水(0.9% NaCl)。

### 试剂准备

### 规格 1 (50 assays)

- ① 检测前,将试剂平衡至室温。
- ② 80 μmol/mL试剂二贮备液配制: 每支试剂二粉剂加5 mL试剂三溶解,现用现配,余下的4°C以下可保存一 周。
- ③ 试剂二应用液配制: 按试剂二贮备液: 试剂一为1:9的体积比配制,现用现配,配好的应用液 2-8°C保存1天。
- ④ 试剂四贮备液配制: 向试剂四瓶中加入30 mL双蒸水溶解,混匀,2-8°C保存3个月。
- ⑤ 试剂四应用液配制: 按照试剂四贮备液: 试剂五为1:1的体积比配制, 现用现配, 配好的试剂 2-8°C保存1天。
- ⑥ 试剂九应用液的配制: 按试剂九: 双蒸水为1:39的体积比配制,混匀,2-8°C保存6个月。
- ⑦ 试剂八应用液配制: 将试剂八用30 mL试剂九应用液溶解,混匀,2-8°C避光保存3个月。

### 规格 2 (100 assays)

- ① 检测前,将试剂平衡至室温。
- ② 80 μmol/mL试剂二贮备液配制: 每支试剂二粉剂加5 mL试剂三溶解,现用现配,余下的4°C以下可保存一 周。
- ③ 试剂二应用液配制: 按试剂二贮备液: 试剂一为1:9的体积比配制,现用现配,配好的应用液 2-8°C保存1天。
- ④ 试剂四贮备液配制: 向试剂四瓶中加入60 mL双蒸水溶解,混匀,2-8°C保存3个月。
- ⑤ 试剂四应用液配制: 按照试剂四贮备液: 试剂五为1:1的体积比配制, 现用现配, 配好的试剂 2-8°C保存1天。
- ⑥ 试剂九应用液的配制: 按试剂九: 双蒸水为1:39的体积比配制,混匀,2-8°C保存6个月。
- ⑦ 试剂八应用液配制: 将试剂八用60 mL试剂九应用液溶解,混匀,2-8°C避光保存3个月。

### 样本准备

#### 1 样本处理

血清(浆)样本:直接检测。

组织样本: 匀浆介质为生理盐水(0.9% NaCl)。匀浆后, 4℃, 10000×g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

细胞样本:取  $10^6$  细胞加入 300-500  $\mu$ L 生理盐水(0.9% NaCl 溶液)进行匀浆。匀浆后, $4^{\circ}$ C, $10000 \times g$  离心 10 min,取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

#### ② 样本的稀释

在正式检测前,需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验,根据预实验的结果,结合本试剂盒的线性范围: 2.17-71.33 U/mL,请参考下表稀释(仅供参考):

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	2-3 倍	10%小鼠脑组织	不稀释
人血浆	2-3 倍	10%大鼠脑组织	不稀释
小鼠血清	2-3 倍	10%大鼠肾组织	不稀释
小鼠血浆	2-3 倍	10%大鼠脾组织	不稀释
SH-SY5Y 细胞上清	不稀释	10%小鼠肝组织	不稀释
SH-SY5Y 细胞匀浆	不稀释		

注:稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)。

### 实验关键点

- ① 显色后的棕红色铁络合物不太稳定,须控制在20分钟内比色完毕。 若大批样品分析时可分批加入显色剂。
  - ② 比色读数时, 避免气泡产生。

### 操作步骤

### 血清(浆)、组织及细胞的测定

- ① 空白管: 取 0.3 mL 双蒸水加入到 5 mL EP 管中; 对照管: 取 0.05 mL 双蒸水加入到 5 mL EP 管中; 测定管: 取 0.05 mL 待测样本加入到 5 mL EP 管中。
- ② 向步骤①中对照管、测定管中各加入 0.25 mL 试剂二应用液;
- ③ 向空白管、对照管、测定管中各加入 0.5 mL 试剂一, 混匀;
- ④ 37°C 孵育 20 min。
- ⑤ 向步骤④中的各管依次加入 1 mL 试剂四应用液、0.5 mL 试剂六、0.25 mL 试剂七、0.5 mL 试剂八应用液。
- ⑥ 混匀, 2325×g 离心 10 min。
- ⑦ 取上清,紫外分光光度计上,520 nm,1 cm 光径石英比色皿,空白管调零.测定各管吸光度值。

#### 全血的测定

- ① 空白管: 取 0.35 mL 双蒸水加入到 5 mL EP 管中; 测定管: 取 0.1 mL 待测样本加入到 5 mL EP 管中。
- ② 对照管:取 0.25 mL 试剂二应用液加入到 5 mL EP 管中。
- ③ 向步骤①中测定管中加入 0.25 mL 试剂二应用液。
- ④ 向空白管,对照管,测定管中各加入 0.5 mL 试剂一,混匀。
- ⑤ 37°C 孵育 20 min。
- ⑥ 向步骤⑤中的各管依次加入 1 mL 试剂四应用液、0.5 mL 试剂六、0.25 mL 试剂七、0.5 mL 试剂八应用液。
- ⑦ 向对照管中加入 0.1 mL 待测样本
- ⑧ 混匀, 2325×g 离心 10 min。
- ⑨ 取上清,紫外分光光度计上,520 nm,1 cm 光径石英比色皿,空白管调零.测定各管吸光度值。

操作表

### 血清(浆)、组织及细胞的测定

	空白管	对照管	测定管
待测样本(mL)			0.05
双蒸水(mL)	0.3	0.05	
试剂二应用液(mL)		0.25	0.25
试剂一(mL)	0.5	0.5	0.5
	混匀, 37°C 孵育 2	0 min	
试剂四应用液(mL)	1	1	1
试剂六(mL)	0.5	0.5	0.5
试剂七(mL)	0.25	0.25	0.25
试剂八应用液(mL)	0.5	0.5	0.5

混匀, $2325 \times g$  离心 10 min,取上清,紫外分光光度计上,520 nm,1 cm 光径石英比色皿,空白管调零,测定各管吸光度值。

### 全血的测定

	空白管	对照管	测定管	
待测样本(mL)			0.1	
双蒸水(mL)	0.35			
试剂二应用液(mL)		0.25	0.25	
试剂一(mL)	0.5	0.5	0.5	
混匀, 37℃ 孵育 20 min				
试剂四应用液(mL)	1	1	1	
试剂六(mL)	0.5	0.5	0.5	
试剂七(mL)	0.25	0.25	0.25	
试剂八应用液(mL)	0.5	0.5	0.5	
待测样本(mL)		0.1		

混匀, $2325 \times g$  离心  $10 \, \text{min}$ ,取上清,紫外分光光度计上, $520 \, \text{nm}$ , $1 \, \text{cm}$  光径石英比色皿,空白管调零,测定各管吸光度值。

### 结果计算

### 血清(浆)样本中胆碱酯酶活力计算:

单位定义: 每毫升血清在 37°C 与底物作用 20 min, 分解 1 μmol 乙酰胆碱为 1 个活力单位。

胆碱酯酶活力 = 
$$\frac{A_1 - A_2}{A_1} \times C \times \frac{V_1}{V_2} \times f$$

#### 组织、细胞中胆碱酯酶活力计算:

单位定义:每毫克组织蛋白在 37°C 与底物作用 20 min,分解 1 μmol 乙酰胆碱为 1 个活力单位。

$$\frac{\textit{胆碱酯酶活力}}{(\textit{U/mgprot})} = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times C \times \frac{V_1}{V_2} \div C_{pr} \times f$$

### 全血样本中胆碱酯酶活力计算:

单位定义: 每毫升全血在 37°C 与底物作用 20 min, 分解 1 μmol 乙酰胆碱为 1 个活力单位。。

胆碱酯酶活力 = 
$$\frac{A_1 - A_2}{A_1} \times C \times \frac{V_1}{V_3} \times f$$

### 注解:

A<sub>1</sub>: 对照管 OD 值

A2: 测定管 OD 值

C: 对照管浓度, 8 µmol/mL

V<sub>1</sub>: 试剂二应用液体积(0.25 mL)

V2: 血清及组织样本的取样量(0.05 mL)

V3: 全血样本的取样量(0.1 mL)

C<sub>pr</sub>: 待测样本蛋白浓度(mgprot/mL)

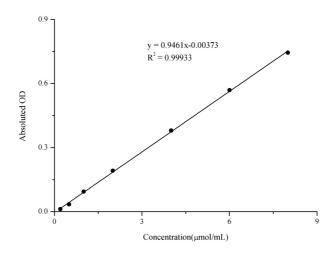
f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

### 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

检测范围	1.17-160 U/mL	平均批间差	9.4 %
灵敏度	1.17 U/mL	平均批内差	3.7 %
平均回收率	104 %		

### 2. 标准曲线 (仅供参考)



### 附录2 实例分析

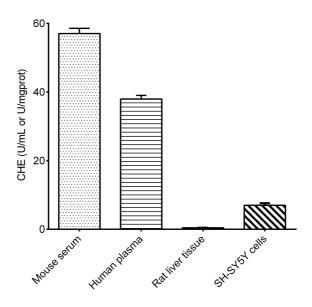
#### 例如检测小鼠血清(数据仅供参考):

将小鼠血清:生理盐水=1:1稀释,取0.05 mL稀释后的小鼠血清,按操作表检测,结果如下。

测定管平均OD值为0.208, 对照管平均OD值为0.725, 计算结果为:

胆碱酯酶活力=
$$\frac{0.725\text{-}0.208}{0.725}$$
×8× $\frac{0.25}{0.05}$ ×2=57.04 U/mL

按照说明书操作,测定小鼠血清(稀释2倍,加样量0.05 mL)、人血浆(稀释2倍,加样量0.05 mL)、大鼠肝组织(10%组织匀浆的蛋白含量11.35 mgprot/mL, 加样量0.05 mL)、和SH-SY5Y细胞(蛋白含量0.62 mgprot/mL, 加样量0.05 mL)中胆碱酯酶活力(如下图):



### 附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	测定时, 比色皿中有气泡	用移液枪赶走气泡后,进行测 定
	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数,重新检测
样本测不出值 	样本保存时间过长或者保 存不当	取新鲜样本, 重新检测

#### 声明

- 1. 试剂盒仅供研究使用,如将其用于临床诊断或任何其他用途,我公司将 不对因此产生的问题负责.亦不承担任何法律责任。
- 2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器,严格按照说明书进行实验。
- 3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
- 4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低,请对样本做适当的稀释或浓缩。
- 若所检样本不在说明书所列样本类型之中,建议先做预实验验证其检测 有效性。
- 6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责,不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责,使用前请充分考虑样本可能的使用量,预留充足的样本。

### 附录4 客户发表文献

- Zhang X, He C, Chen Y, et al. Cyclic reactions-mediated self-supply of H2O2 and O2 for cooperative chemodynamic/starvation cancer therapy[J]. Biomaterials, 2021, 275:120987-. IF:12.479
- 2. Xia H, Scholtes C, Dufour CR, et al. Insulin action and resistance are dependent on a GSK3β-FBXW7-ERRα transcriptional axis. Nat Commun. 2022; 13 (1):2105. IF:14.919
- Liu Q, Zhang T X, Zheng Y D, et al. Calixarene-Embedded Nanoparticles for Interference-Free Gene–Drug Combination Cancer Therapy[J]. Small, 2021, 2006223. IF:11.459
- 4. He C, Zhang X, Chen C, et al. A solid lipid coated calcium peroxide nanocarrier enables combined cancer chemo/chemodynamic therapy with O2/H2O2 self-sufficiency[J]. Acta Biomaterialia, 2021, 122. IF:8.203
- 5. Chen L, Tao F, Zhang Y, et al. Islet-cell autoantigen 69 accelerates liver regeneration by downregulating Tgfbr1 and attenuating Tgf  $\beta$  signaling in mice[J]. FEBS Letters, 2020, 594(17). IF:6.665
- Omar N, Frank J, Kruger J, et al. Effects of High Intakes of Fructose and Galactose, with or Without Added Fructooligosaccharides, on Metabolic Factors, Inflammation, and Gut Integrity in a Rat Model[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2021:2001133. IF:5.914
- 7. Wang C, Ma C, Fu K, et al. Phillygenin Attenuates Carbon Tetrachloride-Induced Liver Fibrosis via Modulating Inflammation and Gut Microbiota[J]. Frontiers in Pharmacology, 2021, 9, 21. IF:5.81
- 8. Du Y Q, Zheng Y Z, Yu C X M, et al. The Mechanisms of Yu Ping Feng San in Tracking the Cisplatin-Resistance by Regulating ATP-Binding Cassette Transporter and Glutathione S-Transferase in Lung Cancer Cells[J].Frontiers in Pharmacology, 2021; 12: 678126. IF:5.81
- Zeng X Peng, Wang L J, Guo L H, et al. Dasatinib ameliorates chronic pancreatitis induced by caerulein via anti- fibrotic and anti-inflammatory mechanism[J]. Pharmacological Research, 2019, 147, 104357. IF:5.574
- Cao X, Liang Y, Liu R, et al. Uncovering the Pharmacological Mechanisms of Gexia-Zhuyu Formula (GXZY) in Treating Liver Cirrhosis by an Integrative Pharmacology Strategy. Front Pharmacol. 2022; 13:793888. IF:5.331