

(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 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	60 mL×1 瓶	60 mL×2 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	稀释液 1 (Diluent 1)	5 mL×1 瓶	10 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 1 (Chromogenic Agent 1)	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	碱试剂 (Alkali Reagent)	30 mL×1 瓶	60 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	酸试剂 (Acid Reagent)	30 mL×1 瓶	60 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂七 (Reagent 7)	蛋白沉淀剂 (Protein Precipitator)	20 mL×1 瓶	40 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂八 (Reagent 8)	显色剂 2 (Chromogenic Agent 2)	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂九 (Reagent 9)	稀释液 2 (Diluent 2)	1 mL×1 支	2 mL×1 支	2-8℃ 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 μ L, 200 μ L, 100 μ L, 10 μ L)、离心机、烧杯(50 mL)。

耗材：枪头(1000 μ L, 200 μ L, 50 μ L)、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 μ mol/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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $\mu\text{mol/mL}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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 10⁶ 细胞加入 300-500 μL 生理盐水(0.9% NaCl 溶液)进行匀浆。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。

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℃ 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℃ 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℃ 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
混匀, 2325 ×g 离心 10 min, 取上清, 紫外分光光度计上, 520 nm, 1cm 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 ×g 离心 10 min, 取上清, 紫外分光光度计上, 520 nm, 1cm 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℃ 与底物作用 20 min, 分解 1 μmol 乙酰胆碱为 1 个活力单位。

$$\text{胆碱酯酶活力 (U/mL)} = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times C \times \frac{V_1}{V_2} \times f$$

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℃ 与底物作用 20 min, 分解 1 μmol 乙酰胆碱为 1 个活力单位。

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

全血样本中胆碱酯酶活力计算:

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

$$\text{胆碱酯酶活力 (U/mL)} = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times C \times \frac{V_1}{V_3} \times f$$

注解:

A₁: 对照管 OD 值

A₂: 测定管 OD 值

C: 对照管浓度, 8 μmol/mL

V₁: 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_{pr}: 待测样本蛋白浓度(mgprot/mL)

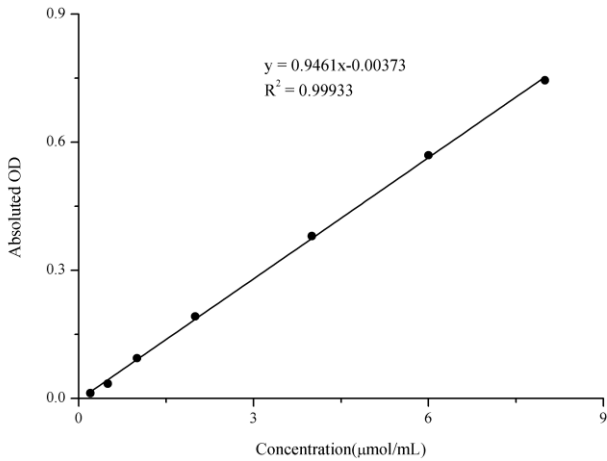
f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

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

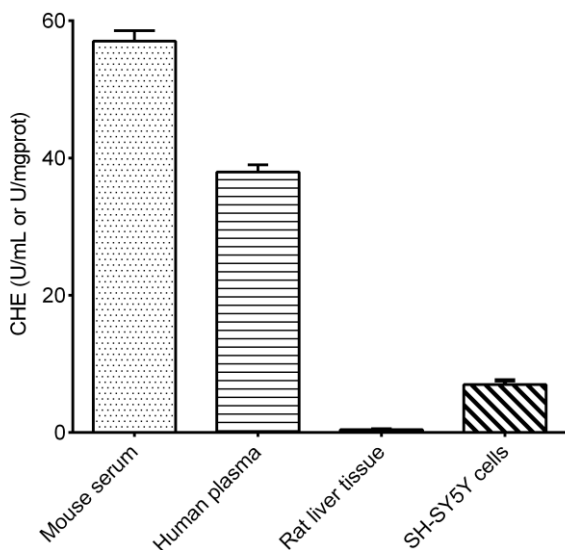
例如检测小鼠血清(数据仅供参考):

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:

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

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
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数，重新检测
	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。
5. 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

1. 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 GSK3 β -FBXW7-ERR α transcriptional axis. *Nat Commun*. 2022; 13 (1):2105. IF:14.919
3. 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 Tgfb1 and attenuating Tgf β signaling in mice[J]. *FEBS Letters*, 2020, 594(17). IF:6.665
6. 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
9. 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
10. 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