胆碱酯酶(ChE)检测试剂盒(羟胺氯化铁微板法)

产品简介:

胆碱酯酶(cholinesterase，ChE)属于特异性酯酶，可分为两大类，一类是乙酰胆碱酯酶(Acetyl cholinesterase，EC 3.1.1.7, AChE)又称为真性胆碱酯酶，能水解乙酰胆碱，起到生理的调节作用；另一类为胆碱酯酶又称假性胆碱酯酶(Pseudo cholinesterase，3.1.1.8，PsChE)或拟胆碱酯酶，能水解胆碱的酯而不能水解乙酰胆碱酯。乙酰胆碱酯酶主要存在于神经元的胞质内、神经与肌肉接头处即所谓运动终板处；PsChE 主要存在于血浆、胰腺、唾液腺内，生理功能尚不明确，测定胆碱酯酶可以判断有机磷中毒的程度，鉴定遗传性胆碱酯酶变异，肝实质性损害程度。

胆碱酯酶(ChE)检测试剂盒(羟胺三氯化铁微板法)其检测原理是待测样品中的胆碱酯酶能催化乙酰胆碱水解生成胆碱和乙酸，剩余的乙酰胆碱与羟胺作用生成乙酸羟胺，后者与三价铁离子结合生成呈棕色复合物，通过酶标仪检测 540nm 处吸光度，根据标准曲线即可测出 ChE 活力。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	GCTE0211 100T	Storage
试剂(A): ChE Buffer Ⅰ	8ml	4℃ 避光
试剂(B): ChE Buffer Ⅱ	1ml	4℃ 避光
试剂(C): ChE Buffer Ⅲ	1ml	RT
试剂(D): 羟胺溶液	5ml	4℃ 避光
试剂(E): 羟胺缓冲液	5ml	RT
试剂(F): ChE 酸化液	30ml	RT
试剂(G): ChE 显色液	40ml	RT
使用说明书	1 份	

自备材料:

1、蒸馏水、EP 管或小离心管、水浴锅或恒温箱、离心机、96 孔板、酶标仪

操作步骤(仅供参考):

1、准备样品:

①血浆、血清样品:血浆、血清按照常规方法制备，可以直接用于该试剂盒的测定，-20℃冻存，用于 ChE 的检测。

②细胞或组织样品：取恰当细胞或组织进行匀浆，低速离心取上清，-20℃冻存，用于 ChE 的检测。

③高活性样品：如果样品中含有较高活性的 ChE，可以使用蒸馏水稀释。

④(选做)样品准备完毕后可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度，以便于后续计算单位蛋白重量组织或细胞内的 ChE 含量。

2、配制乙酰胆碱工作液：实验前，按 ChE Buffer Ⅰ：Ⅱ：Ⅲ=8：1：1 的比例混合，即得乙酰胆碱工作液，4℃保存备用。

3、配制羟胺工作液实验前，按羟胺溶液：羟胺缓冲液=1：1 的比例混合，即得羟胺工作液，4℃保存备用。

4、稀释标准品：取适量的乙酰胆碱工作液，按下表制稀释，获得 100U、80U、60U、40U、20U 的标准品(1~5 号)。

加入物	1	2	3	4	5
乙酰胆碱工作液(ml)	0.1	0.08	0.06	0.04	0.02
蒸馏水(ml)	0	0.02	0.04	0.06	0.08
相当于乙酰胆碱(μmol/管)	5	4	3	2	1
相当于 ChE 活力单位(U)	100	80	60	40	20

5、ChE 酶促：按照下表设置空白管、标准管、测定管，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的酶活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。

加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
乙酰胆碱工作液(37℃预温 5min)	—	—	0.1
待测样品(如血清等)	—	—	0.01
蒸馏水	0.11	0.01	—
标准品(1~5 号)(37℃预温 5min)	—	0.1	—
混匀，37℃水浴 60min。			
羟胺工作液	0.1	0.1	0.1
混匀，静置 1min。			
ChE 酸化液	0.3	0.3	0.3

6、ChE 显色：混匀上述各管溶液，各取 0.1ml，按照下表设置空白管、标准管、测定管：

加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
上述混合液	0.1	0.1	0.1
蒸馏水	1.6	1.6	1.6
ChE 显色液	0.4	0.4	0.4

7、ChE 测定：混匀，4000g 离心 10min，取上清液比色，96 孔板每孔加入 200~300μl，以空白调零，酶标仪测定 540nm 处吸光度(记为 $A_{标准}$和 $A_{测定}$)。

计算：

ChE 活性单位的定义：1ml 血清中 ChE 在 37℃水浴与底物作用 1h，每水解 1μmol 乙酰胆碱为 1 个 ChE 酶活力单位，根据酶活性定义计算出样品中的 ChE 活性。以标准管活力单位(U)为横坐标，以对应的吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，查出待测样品的 ChE 酶活力单位。

注意事项：

1、 胆红素浓度小于 257μmol/L，血红蛋白浓度小于 4g/L，对MAO 活力检测没有影响。
2、 水浴时间若为 20min，参考值因为本法的 1/3。
3、 加入羟胺工作液后，应静置 1min，以使羟胺与乙酰胆碱重复混匀。
4、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
5、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
6、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：6 个月有效；低温运输，按要求保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCCA0005	氨苄青霉素溶液(Ampicillin,50mg/ml)
GCDH0006	苏木素伊红(HE)染色液(醇溶)
GCNR0003	Lezol(总 RNA 提取试剂)
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCPE0018	SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒
GCTC0713	葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 比色法)