

羧酸酯酶（CarE）活性检测试剂盒（可见分光光度法）

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1282

产品规格：50管/48样

产品简介：

哺乳动物CarE，也称脂族酯酶（alioesterase），广泛分布于组织和器官，属于丝氨酸水解酶家族。CarE催化含酯键、酰胺键和硫酸酯键的内源性与外源性物质水解，但不能催化水解乙酰胆碱及其类似物。CarE参与脂质运输和代谢，并且与多种药物、环境毒物以及致癌物的解毒和代谢有关，有机磷农药可结合并且抑制CarE活性。

CarE能催化乙酸-1-萘酯生成萘酯，固蓝显色；在450nm光吸收增加速率，计算CarE活性。

产品内容：

提取液：液体50mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：粉剂×1瓶，4℃保存。用前用20mL无水乙醇充分溶解。

试剂二：粉剂×1瓶，-20℃保存。用前将全部试剂三倒入试剂二瓶中充分溶解。

试剂三：液体30mL×1瓶，4℃保存。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿、低温离心机、水浴锅、可调式移液枪和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每200万细菌或细胞加入400 μL提取液，超声波破碎细胞（功率20%，超声3s，间隔10s，重复30次）；然后15000rpm，4℃，离心30min，取上清置于冰上待检。

组织：按照组织质量（g）：提取液体积(ml)为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1ml提取液），进行冰浴匀浆。15000rpm，4℃，离心30min，取上清置于冰上待检。

血清：直接测量。

二、测定步骤：

1、分光光度计预热30min以上，调节波长至450nm，蒸馏水调零。

2、试剂二和试剂一置于37℃水浴中预热30min以上。

3、在1mL玻璃比色皿中进行如下操作：

试剂名称（μL）	空白管	测定管
蒸馏水	15	
上清液		15
试剂二	600	600
试剂一	360	360

迅速混匀后，测定第10s的吸光值记为A1空和A1测，反应3min，吹打混匀后立即测定190s的吸光值，记为A2空，A2测。注意：空白管只需做1~2次。计算 $\Delta A_{\text{空白管}} = A2_{\text{空}} - A1_{\text{空}}$ ， $\Delta A_{\text{测定管}} = A2_{\text{测}} - A1_{\text{测}}$ 。

CarE 活性计算：



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

(1) 按样本蛋白浓度计算:

单位的定义: 37°C下, 每mL反应体系每mg组织蛋白每分钟催化吸光值增加 1 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{CarE 酶活(U/mg prot)} &= (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{反总}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T \\ &= 21.67 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \text{Cpr}\end{aligned}$$

(2) 按样本鲜重计算:

单位的定义: 37°C下, 每mL反应体系每g组织鲜重每分钟催化吸光值增加1定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{CarE 酶活(U/g 鲜重)} &= (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{反总}} \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T \\ &= 21.67 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div W\end{aligned}$$

(3) 按细菌或细胞密度计算:

单位的定义: 37°C下, 每mL反应体系每1万个细菌或细胞每分钟催化吸光值增加1定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{CarE 酶活(U/10}^4\text{cell)} &= (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{反总}} \div (200 \div V_{\text{细胞样总}} \times V_{\text{样}}) \div T \\ &= 0.044 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}})\end{aligned}$$

(4) 按血清计算:

单位的定义: 37°C下, 每mL反应体系每mL血清每分钟催化吸光值增加1定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{CarE 酶活(U/mL)} &= (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{血清}} \div T \\ &= 21.67 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}).\end{aligned}$$

V样总: 上清液总体积, 1mL; V样: 加入样本体积, 0.015 ml; T: 反应时间, 3min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/ml; W: 样本质量, g; 200: 细菌或细胞总数, 200万; V 细胞样总: 细胞中加入的试剂一体积, 0.4mL; V 血清: 加入血清体积, 0.4mL; V反总: 反应体系总体积, 0.975mL。

注意事项:

- 1、动物组织样品一般稀释10倍进行操作测定。
- 2、当吸光值大于1时, 建议将样品稀释后测量。计算公式注意乘以稀释倍数。
- 3、建议反应时保持37°C的环境, 逐一比色, 不建议用96孔板同时测很多样品。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>