

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0660

Size: 50T/48S

羧酸酯酶 (CarE) 检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

哺乳动物 CarE, 也称脂族酯酶 (aliesterase), 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。

二、测定原理:

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

三、需自备的仪器和用品:

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

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体×1 瓶 (棕色)	4℃避光保存	

五、样本的前处理：

1、细菌、细胞样品制备

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 试剂一，超声波破碎细菌或细胞（功率 20%，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000g 4℃ 离心 30min，取上清液待测。

2、组织：按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一）进行冰浴匀浆；12000g 4℃ 离心 30min，取上清液待测。

3、液体：直接测定。

六、测定步骤：

1. 分光光度计预热30min，调节波长到450 nm，蒸馏水调零。

2. 试剂二置于37℃水浴中预热 30 min。

3. 空白管：取1mL 玻璃比色皿，依次加入5 μL 蒸馏水和1000 μL 试剂二，迅速混匀，于450nm处测定3min内吸光值变化，第10s吸光值记为A1，第190s吸光值记为A2。 $\Delta A_{\text{空白管}} = A2 - A1$

4. 测定管：取1mL玻璃比色皿，依次加入5 μL 上清液和1000 μL 试剂二，迅速混匀，于 450nm处测定3min内吸光值变化，第10s吸光值记为A3，第190s吸光值记为A4。 $\Delta A_{\text{测定管}} = A4 - A3$

注意：空白管只需测定一次。

七、CarE 活性计算公式：

1. 组织中 CarE 活性

(1) 按照蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白在 37℃反应体系中每分钟催化吸光值增加 1 定义为 1 个酶活单位。

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

$= 67 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \text{Cpr}$

Cpr: 蛋白质浓度, mg/mL; V 样: 加入上清液体积, 0.005 mL; T: 反应时间, 3min。V 反总: 1.005mL; 蛋白质浓度需要另外测定, 建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

(2) 按照样品质量计算

单位的定义: 每 g 组织在 37°C 反应体系中每分钟催化吸光值增加 1 定义为 1 个酶活单位。

$$\text{CarE 酶活 (U/g)} = (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{反总}} \times (V_{\text{样总}} \div V_{\text{样}}) \div W \div T$$
$$= 67 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div W$$

V 样总: 上清液总体积, 1 mL; V 样: 加入上清液体积 (mL), 0.005 mL; V 反总: 1.005mL;
W: 样品质量 (g); T: 反应时间 (min), 3min。

2. 细菌或细胞中 CarE 活性

单位的定义: 每1万个细菌或细胞在 37°C 反应体系中每分钟催化吸光值增加1定义为1个酶活单位。

$$\text{CarE 酶活 (U/10}^4\text{cell)} = (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{反总}} \times (V_{\text{样总}} \div V_{\text{样}}) \div \text{细胞密度 (10}^4\text{cell/mL)} \div T$$
$$= 67 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \text{细胞密度 (10}^4\text{ cell/mL)}$$

V 总: 上清液总体积, 1 mL; V 样: 加入上清液体积 (mL), 0.005 mL; V 反总: 1.005mL ;
T: 反应时间 (min), 3min。

3. 液体中 CarE 活性

单位的定义: 每毫升样品在 37°C 反应体系中每分钟催化吸光值增加 1 定义为 1 个酶活单位。

$$\text{CarE 酶活 (U/mL)} = (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 67 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}})$$

V 样总: 上清液总体积, 1 mL; V 样: 加入上清液体积 (mL), 0.005 mL; V 反总: 1.005mL;
T: 反应时间 (min), 3min。