



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

羧酸酯酶(CarE)活性检测试剂盒(微量法)

货号: R41964

规格: 100T/96S

有效期: 6个月

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
试剂-A	100mL×1瓶	2-8℃保存;
试剂-B	15mL×2瓶	2-8℃保存;
试剂-C	粉剂×2支	2-8℃保存;
试剂-D	粉剂×2支	-20℃保存;

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

简介

意义: 羧酸酯酶 (Carboxylesterase, CaEs, CarE, CE3.1.1.1) 是一个多基因家族, 其基因产物定位于多种组织的内质网中, 广泛分布于组织和器官中, 属于丝氨酸水解酶家族。羧酸酯酶能有效催化酯类和酰胺类化合物水解, 但不能催化水解乙酰胆碱及其类似物。CarE 与多种药物、环境毒物以及致癌物的解毒和代谢有关, 并且参与脂质运输和代谢。

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。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、低温离心机、水浴锅、研钵/匀浆器、可调式移液枪、无水乙醇和蒸馏水。

粗酶液提取:

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 μ L 试剂-A，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 $^{\circ}$ C离心 30min，取上清液置冰上待测。

2. 组织样品制备

按照组织质量（g）：试剂-A 体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL试剂-A）进行冰浴匀浆；12000g 4 $^{\circ}$ C离心 30min，取上清液置冰上待测。

3. 液体：直接测定。

测定步骤：

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长到 450 nm，分光光度计蒸馏水调零。

2. 试剂配制：

（1）临用前取 1 支 试剂-C，加 0.6ml 无水乙醇充分溶解；

（2）临用前取 1 支 试剂-D，加少量 试剂-B 溶解；

（3）工作液配制：临用前配制，向 1 瓶 试剂-B 中，加入溶解后的 试剂-C 和 试剂-D各 1 支，充分溶解，过滤，4 $^{\circ}$ C避光保存，可用 1 周。

3. 工作液在使用前 37 $^{\circ}$ C预热 30min。

4. 在微量玻璃比色皿/96 孔板中依次加入：

试剂名称	空白管(ul)	测定管(ul)
蒸馏水	5	
样本		5
工作液	200	200
迅速混匀，于450nm处测定3min内吸光值变化，第10s吸光值记为A1测 及A1空，37 $^{\circ}$ C准确反应3min;然后测定第190s吸光值，记为A2测及A2空。 ΔA 空白管=A2空-A1空， ΔA 测定管=A2测-A1测。		
注意：空白管只需测定1-2次。		

CarE 活性计算公式：

1. 组织中 CarE 活性

（1）按蛋白浓度计算



活性单位定义: 每 mg 组织蛋白在 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。

$$\text{CarE 酶活 (U/mg prot)} = (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \times V \text{ 反总} \div (\text{Cpr} \times V \text{ 样}) \div T \\ = 13.67 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \text{Cpr}$$

注: 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: 205 μ L=0.205mL; 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) 按样本鲜重计算

活性单位定义: 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。

$$\text{CarE 酶活 (U/g 鲜重)} = (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \times V \text{ 反总} \times (V \text{ 样总} \div V \text{ 样}) \div W \div T \\ = 13.67 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div W$$

注: V 样总: 上清液总体积, 1mL; V 样: 加入上清液体积(mL), 0.005 mL; V 反总: 205 μ L=0.205mL; W: 样品质量 (g); T: 反应时间 (min), 3min。

2. 细菌或细胞中 CarE 活性

活性单位定义: 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 定义为一个 CarE 活性单位。

$$\text{CarE 酶活 (U/10}^4\text{cell)} = (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \times V \text{ 反总} \times (V \text{ 样总} \div V \text{ 样}) \div \text{细胞密度 (10}^4\text{ cell/mL)} \div T \\ = 5.47 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \text{细胞密度 (10}^4\text{ cell/mL)}$$

注: V 样总: 上清液总体积, 0.4 mL; V 样: 加入上清液体积(mL), 0.005 mL; V 反总: 205 μ L=0.205mL; T: 反应时间 (min), 3min。

3. 液体中 CarE 活性

活性单位定义: 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。

$$\text{CarE 酶活 (U/mL)} = (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \times V \text{ 反总} \div V \text{ 样} \div T \\ = 13.67 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管})$$

注: V 样: 加入上清液体积(mL), 0.005 mL; V 反总: 205 μ L=0.205mL; T: 反应时间 (min), 3min。