

使用说明书

Instruction Manual

羧酸酯酶(CarE)活性检测试剂盒（微量法）

Carboxylesterase Assay Kit (Microanalysis)

产品描述

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。

检测原理

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。

产品组成及储存条件

100T/96S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0043M-A	100mL×1 瓶	4℃保存
CB0043M-B	15mL×2 瓶	4℃保存
CB0043M-C	粉剂×2 支	4℃保存
CB0043M-D	粉剂×2 支	-20℃保存

注：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

操作说明

一、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。

二、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 400μL CB0043M-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℃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）：CB0043M-A 体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL CB0043M-A）进行冰浴匀浆；12000g 4℃离心 30min，取上清液置冰上待测。

3. 液体：直接测定。

三、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 CB0043M-C，加 0.6mL 无水乙醇充分溶解。

（2）临用前取 1 支 CB0043M-D，加少量 CB0043M-B 溶解。

- (3) 工作液配制：临用前配制，向 1 瓶 CB0043M-B 中，加入溶解后的 CB0043M-C 和 CB0043M-D 各 1 支，充分溶解，过滤，4℃避光保存，可用 1 周。
3. 工作液在使用前 37℃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 (μL)	测定管 (μL)
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℃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：空白管只需要测定 1-2 次。

四、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℃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。

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

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：205μL=0.205mL；蛋白质浓度需要另外测定，建议使用 TargetMol 的 BCA 蛋白质含量测定试剂盒(C0050)。

(2) 按样本鲜重计算

活性单位定义：每 g 组织在 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。

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

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：205μL=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℃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。

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

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：205μL=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℃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。

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

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

注意事项

- 蛋白定量测定，建议使用 TargetMol 生产的 BCA Protein Quantification Kit (C0050)。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

