

Carboxylesterase Activity Assay Kit

羧酸酯酶(CarE)活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1844B	羧酸酯酶(CarE)活性检测试剂盒 微板法	96T

产品简介:

羧酸酯酶 (CarE, EC 3.1.1.1) 是一种广泛分布于细胞胞液、线粒体和内质网的多聚蛋白, 主要催化酯、硫酸酯和酰胺的水解, 参与生物的解毒过程, 被称为生物体内的清除剂。

羧酸酯酶催化乙酸-1-萘酯生成萘酚, 进一步与固蓝显色剂反应生成有色物质, 通过检测该有色物质在 450 nm 处的光吸收增加速率, 进而得出羧酸酯酶 (CarE) 活性大小。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	110mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	粉末×5 支	-20°C避光保存	每支使用前甩几下使试剂落入底部, 再加 2mL 乙醇完全溶解备用, 溶好的试剂可-20 度分装保存, 禁止反复冻溶且避光保存, 变色 (即由浅黄色变为褐色) 即废弃。
试剂二 A	粉末×2 支	-20°C保存	每支使用前甩几下使试剂二 A 落入底部, 加 0.1mL 乙醇使试剂二 A 完全溶解, 再分别转移溶好的试剂二 A 至一个试剂二 B 空瓶中, 接着再向试剂二 B 瓶中加 9.9mL 试剂三混匀作为试剂二 mix 备用。可-20 度分装保存, 禁止反复冻溶。
试剂二 B	空瓶×2 瓶	-20°C保存	
试剂三	30mL×1 瓶	4°C保存	

使用方法:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

一、样本准备

1. 组织样本:

- (a) 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;
- (b) 12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g) : 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例进行提取。

2. 细胞/细菌样本:

- (a) 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;
- (b) 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次);
- (c) 12000rpm 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
 注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



3. 液体样本:

直接检测; 若浑浊, 离心后取上清检测。

二、样品测定

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 450nm。
2. 所有试剂解冻至室温 (25°C)。
3. 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	10	10
试剂一	30	30
蒸馏水	-	160
试剂二	160	-

加入试剂二后立即开始计时, 37°C准确反应 3min 后在 450nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本做一个自身对照)。

- 【注】** 1. 加完试剂二即启动反应, 所以试剂二加完需立即检测, 若 A 测定值大于 1.5 或 ΔA 大于 1, 可对样本进行稀释, 稀释倍数 D 需代入公式重新计算。
 2. 试剂一和二可预先按照比例 30:160 混合 (用多少混合多少试剂量), 然后加完样本后直接加 190μL 混合液即可; 若加样本后再加试剂一出现浑浊沉淀, 则可预先使试剂一和二按照比例 30:160 混合 (用多少混合多少试剂量), 加完样本后直接加 190μL 混合液即可;
 3. 若 ΔA 小于 0.005, 可增加样本量 V1 (如增至 30μL, 试剂二相应减少), 或延长反应时间 T (如由 3min 延长至 10min), 则改变后的 V1 和 T 需代入公式重新计算。

三、结果计算

1. 按样本鲜重计算:

酶活定义: 每克组织每分钟在反应体系中使 450nm 处吸光值增加 1 为一个酶活单位。

$$\text{CarE}(\Delta\text{OD}_{450}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = \Delta A \div 1 \div (W \times V1 \div V) \div T \times D = 33.33 \times \Delta A \div W \times D$$

2. 按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 每毫克组织蛋白每分钟在反应体系中使 450nm 处吸光值增加 1 为一个酶活单位。

$$\text{CarE}(\Delta\text{OD}_{450}/\text{min}/\text{mg prot}) = \Delta A \div 1 \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \times D = 33.33 \times \Delta A \div \text{Cpr} \times D$$

3. 按细胞数量计算:

酶活定义: 每 10^4 个细胞每分钟在反应体系中使 450nm 处吸光值 1 为一个酶活单位。

$$\text{CarE}(\Delta\text{OD}_{450}/\text{min}/10^4\text{cell}) = \Delta A \div 1 \div (500 \times V1 \div V) \div T \times D = 0.067 \times \Delta A \times D$$

4. 按液体体积计算:

酶活定义: 每毫升液体每分钟在反应体系中使 450nm 处吸光值增加 1 为一个酶活单位。

$$\text{CarE}(\Delta\text{OD}_{450}/\text{min}/\text{mL}) = \Delta A \div 1 \div V1 \div T \times D = 33.33 \times \Delta A \times D$$

V---加入提取液体积, 1 mL

V1---加入样本体积, 0.01mL

T---反应时间, 3 min

W---样本质量, g

D---稀释倍数, 若未稀释则值为 1

D---稀释倍数, 若未稀释则值为 1

注意事项:

1. 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。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

-20°C保存六个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
 注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

