

羧酸酯酶 (CarE) 检测试剂盒 (微量法)

货号: PMK1097

保存: -20℃避光保存 12 个月

规格: 48T/96T

适用样本: 新鲜血清 (浆)、动物组织、细胞

产品简介

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。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。本试剂盒提供了一种简便的检测方法可检测生物体内 CarE 活性, 其原理是: 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

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃ 保存
反应缓冲液	15mL×1 瓶	15mL×2 瓶	4℃ 避光保存
底物	粉剂×1 支	粉剂×2 支	4℃ 避光保存
显色物	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃ 避光保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计 (能测 450nm 处的吸光度)

恒温箱、制冰机、低温离心机

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水

匀浆器 (如果是组织样本)

试剂准备

注意: 各组分 (小管试剂) 开盖前, 请先低速离心。

提取液: 即用型; 4℃ 保存。

反应缓冲液: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4℃ 保存。

底物: 临用前取 1 支底物, 加 0.6ml 无水乙醇充分溶解; 4℃ 避光保存。

显色物: 临用前取 1 支显色物, 加少量反应缓冲液溶解; -20℃ 避光保存。

工作液配制: 临用前配制, 向 1 瓶反应缓冲液中, 加入溶解后的底物和显色物各 1 支, 充分溶解, 过滤, 4℃ 避光保存, 可用 1 周。

样本制备

1. 动物组织: 称取约 0.1g 样本, 加入 1mL 提取液, 冰浴匀浆, 12,000g, 4℃ 离心 30min, 取上清液, 置冰上待测。
2. 细胞: 收集 500 万细胞到离心管内, 用冷 PBS 清洗细胞, 离心后弃上清, 加入 1mL 提取液, 冰浴超声波破碎细胞 5min (功率 20%或 200W, 超声 3s, 间隔 7s, 重复 30 次), 然后 12,000g, 4℃ 离心 310min, 取上清液, 置冰上待测。
3. 新鲜血清 (浆) 等液体样本: 直接测定。

产品说明书

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存1个月。对于脂肪含量较高的动物组织，离心后移除上层脂肪，再取上清液。如需测定蛋白浓度，推荐使用BCA法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热30min以上，调节波长到450nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 恒温箱预热到37℃，工作液置于恒温箱中预热30min。
3. 样本测定：

空白管：在96孔板或微量玻璃比色皿中依次加入5μL去离子水和195μL工作液，迅速混匀，于450nm处测定5min内吸光值变化，第10s吸光值记为A₁，第310s吸光值记为A₂。 $\Delta A_{\text{空}}=A_2-A_1$

测定管：在96孔板或微量玻璃比色皿中依次加入5μL上清液和195μL工作液，迅速混匀，于450nm处测定5min内吸光值变化，第10s吸光值记为A₃，第310s吸光值记为A₄。 $\Delta A_{\text{测}}=A_4-A_3$

注意：空白管只需测定一次。实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果ΔA小于0.001可适当加大样本量。如果ΔA_测大于1.0，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

A. 使用96孔板测定的计算公式

1. 按照蛋白浓度计算

活性单位的定义：37℃下，每mg组织蛋白在反应体系每分钟催化吸光值增加0.5定义为一个酶活力单位。

$$\text{CarE 酶活 (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div 0.5 \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T \times n = 26.67 \times \Delta A \div \text{Cpr} \times n$$

2. 按照样本质量计算

活性单位的定义：37℃下，每g组织在反应体系每分钟催化吸光值增加0.5定义为一个酶活力单位。

$$\text{CarE 酶活 (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div 0.5 \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times n = 26.67 \times \Delta A \div W \times n$$

3. 按细胞数量计算

活性单位定义：37℃下，每10⁴个细胞在反应体系每分钟催化吸光值增加0.5定义为一个酶活力单位。

$$\text{CarE 酶活 (U/10}^4 \text{ cells)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div 0.5 \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times n = 0.053 \times \Delta A \times n$$

4. 按液体体积计算

活性单位定义：37℃下，每mL液体样本在反应体系每分钟催化吸光值增加0.5定义为一个酶活力单位。

$$\text{CarE 酶活 (U/mL)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div 0.5 \div V_{\text{样}} \div T \times n = 26.67 \times \Delta A \times n$$

B. 使用微量玻璃比色皿进行测定的计算公式

1. 按照蛋白浓度计算

活性单位的定义：37℃下，每mg组织蛋白在反应体系每分钟催化吸光值增加1定义为一个酶活力单位。

$$\text{CarE 酶活 (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div 1 \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T \times n = 13.33 \times \Delta A \div \text{Cpr} \times n$$

2. 按照样本质量计算

活性单位的定义：37℃下，每g组织在反应体系每分钟催化吸光值增加1定义为一个酶活力单位。

$$\text{CarE 酶活 (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div 1 \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times n = 13.33 \times \Delta A \div W \times n$$

3. 按细胞数量计算

活性单位定义：37℃下，每10⁴个细胞在反应体系每分钟催化吸光值增加1定义为一个酶活力单位。

$$\text{CarE 酶活 (U/10}^4 \text{ cells)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div 1 \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times n = 0.027 \times \Delta A \times n$$

4. 按液体体积计算

活性单位定义：37℃下，每mL液体样本在反应体系每分钟催化吸光值增加1定义为一个酶活力单位。

$$\text{CarE 酶活 (U/mL)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div 1 \div V_{\text{样}} \div T \times n = 13.33 \times \Delta A \times n$$

V_{反应}：反应体系总体积，0.2mL；V_{样总}：上清液总体积，1mL；V_样：加入样本体积，0.005mL；T：反应时间，3min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细胞总数，500万；n：稀释倍数。

产品说明书

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1094 乙酰胆碱酯酶 (AChE) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1095 酸性磷酸酶 (ACP) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1096 碱性磷酸酶 (AKP/ALP) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1000 NAD 激酶 (NADK) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1004 NADH 氧化酶 (NOX) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

