



羧酸酯酶 (CarE) 活性检测试剂盒
Carboxylesterase (CarE) Activity Assay Kit

1-Naphthyl Acetate



Carboxylesterase (CarE)

Naphthalene Ester



Fast Blue Salt

Azo Compounds

北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



羧酸酯酶 (CarE) 活性检测试剂盒

Carboxylesterase (CarE) Activity Assay Kit

一、产品描述

羧酸酯酶(CarE)是一类广泛存在于哺乳动物组织和器官中的多聚蛋白,属于丝氨酸水解酶家族,其主要功能是催化含酯键、酰胺键和硫酸酯键的内源性与外源性物质的水解,在脂质运输和代谢过程中起重要作用,并且与多种药物、环境毒物以及致癌物的解毒和代谢密切相关。

羧酸酯酶能够催化乙酸-1-萘酯生成萘酯,萘酯进一步与固蓝反应生成偶氮化合物,产物在 450 nm 处具有特征吸收峰,通过吸光值变化即可表征羧酸酯酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 50 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×3 瓶	-20°C 避光保存	使用前每瓶加入 8 mL 试剂一充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 周,避免反复冻融)
试剂三	液体 5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂四	粉剂×2 瓶	4°C 避光保存	使用前每瓶加入 1.5 mL 试剂三充分溶解 再加入 10.5 mL 试剂一充分混匀 (配制后 4°C可保存 1 周)

注:试剂二配制后室温条件下稳定性较差,建议配制和使用过程中始终保持冰上放置,未使用试剂及时置于-20°C保存。

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂:酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备(可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①组织:按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:(5-10)的比例(建议称取 0.1 g 组织,加入 1 mL 提取液)处理样品,冰浴匀浆,4°C 12000 g 离心 10 min,取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞:离心收集细菌或细胞到离心管内,按照细菌或细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为(500-1000):1的比例(建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液)处理样品,冰浴超声破碎(功率 200 W,超声 3 s,间隔 10 s,重复 30 次),4°C 12000 g 离心 10 min,取上清置于冰上待测。

③血清(浆)、培养液等液体样本:直接测定或使用提取液适当稀释后再进行测定。

2.测定步骤

- ①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 450 nm。
- ②试验前将**试剂四** 37°C预热 10 min 以上，检测过程中**试剂二**应始终置于冰上放置。
- ③在 96 孔板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	10	-
蒸馏水	-	10
试剂二	120	120
试剂四	70	70

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 450 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②37°C恒温准确反应 300 s，测定 310 s（总时间）时 450 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。
注：空白组只需测定 1-2 次。

3.羧酸酯酶（CarE）活性计算

- ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：37°C条件下，每 mg 组织蛋白每分钟催化吸光值增加 0.5 定义为一个酶活力单位。

$$\text{CarE (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{0.5 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{8 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

- ②按组织样本质量计算

单位定义：37°C条件下，每 g 组织在每分钟催化吸光值增加 0.5 定义为一个酶活力单位。

$$\text{CarE (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.5 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{8 \times \Delta A}{W}$$

- ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：37°C条件下，每 10^4 个细菌或细胞每分钟催化吸光值增加 0.5 定义为一个酶活力单位。

$$\text{CarE (U/10}^4\text{cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.5 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{8 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

- ④按液体样本体积计算

单位定义：37°C条件下，每 mL 液体样本每分钟催化吸光值增加 0.5 定义为一个酶活力单位。

$$\text{CarE (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{0.5 \times V_{\text{样}} \times T} = 8 \times \Delta A$$

注释: V 样: 反应体系中加入粗酶液的体积, 0.01 mL; V 样总: 粗酶液总体积, 1 mL; V 反总: 反应体系总体积, 0.2 mL; W: 样本质量, g; Cpr: 粗酶液蛋白浓度, mg/mL; 细菌或细胞数量: 以万计; T: 酶促反应时间, 5 min。

四、注意事项

- ①试剂二配制后室温条件下稳定性较差, 建议配制和使用过程中始终保持冰上放置, 若试剂变色则停止使用; 建议测定过程中根据使用量取用试剂二置于冰上放置, 剩余试剂应及时置于-20°C保存;
- ②试剂二和试剂四配制后有效期较短, 为便于试验安排均附赠一瓶作为备用;
- ③准确在 10 s 和 310 s 处完成吸光值测定, 以保证实验结果的准确性和重复性; 同时测定多个样本时, 应使用多道移液器且分批进行测定, 以确保组间反应时间一致;
- ④若 A2 测定或 ΔA 大于 1.0, 建议将粗酶液使用提取液适当稀释后再进行测定; 若 ΔA 小于 0.02, 建议制备更高浓度样本、增加上样量 (粗酶液增加至 20 μ L, 其它试剂量不变) 或适当延长酶促反应时间 (37°C反应时间延长至 10-30 min) 后再进行测定, 计算时相应修改;
- ⑤为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书 (以实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定, 过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

