羧酸酯酶（CarE）活性检测试剂盒（微量法）
（本试剂盒仅供科研使用）

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0195	羧酸酯酶（CarE）活性检测试剂盒	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 ×1 瓶	4℃
试剂二	液体×1 瓶（棕色）（试剂盒收到后，1 周内进行检测）	4℃，避光

一、产品说明

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。

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。

二、自备材料

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、可调式移液枪和蒸馏水。

三、样品准备

1、组织：按照组织质量（g）：试剂一体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一）进行冰浴匀浆；12000g 4℃离心 30min，取上清液待测。

2、细胞或细菌：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 试剂一，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，取上清液待测。

3、血清/血浆： 直接测定。

四、操作步骤

正式测定前，必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 450nm，蒸馏水调零。

2、试剂二置于 37℃水浴中预热 30 min。

3、空白管：取微量玻璃比色皿/96 孔板，依次加入 5μL 蒸馏水和 200μL 试剂二，迅速混匀，于 450nm 处测定 3min 内吸光值变化，第 10s 吸光值记为 A1，第 190s 吸光值记为 A2。 △A 空白管=A2-A1。**空白管只需测一次**。

4、测定管：取微量玻璃比色皿/96 孔板，依次加入 5μL 上清液和 200μL 试剂二，迅速混匀，于 450nm 处测定 3min 内吸光值变化，第 10s 吸光值记为 A3，第 190s 吸光值记为 A4。 △A 测定管=A4-A3。

五、活性的计算

A. 使用 96 孔板测定的计算公式如下：

1、按照样本蛋白浓度计算：

单位的定义：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。

CarE 酶活(U/mg prot)= (△A 测定管-△A 空白管) ×V 反总÷(Cpr×V 样)÷T

= 13.67×(△A 测定管-△A 空白管)÷Cpr。

CarE 酶活(U/mg prot)= (△A 测定管-△A 空白管) ×V 反总÷(Cpr×V 样)÷T

= 13.67×(△A 测定管-△A 空白管)÷Cpr。

2、按照样本鲜重计算：

单位的定义：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。

CarE 酶活(U/g)= (△A 测定管-△A 空白管) ×V 反总×（V 样总÷V 样）÷W÷T

= 13.67×(△A 测定管-△A 空白管)÷W。

3、按照细胞数量计算：

单位的定义：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1个酶活单位。

CarE 酶活(U/10^4cell)= (△A 测定管-△A 空白管) ×V 反总×（V 样总÷V 样）÷细胞密度（10^4cell/mL）÷T = 13.67×(△A 测定管-△A 空白管)÷细胞密度（10^4 cell/mL）。

4、按照血清/血浆体积计算：

单位的定义：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。

CarE 酶活(U/mL)= (△A 测定管-△A 空白管) ×V 反总÷V 样÷T

= 13.67×(△A 测定管-△A 空白管)。

B. 使用微量比色皿测定的计算公式如下：

1、按照样本蛋白浓度计算：

单位的定义：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。

CarE 酶活(U/mg prot)= (△A 测定管-△A 空白管) ×V 反总÷(Cpr×V 样)÷T

= 13.67×(△A 测定管-△A 空白管)÷Cpr。

2、按照样本鲜重计算：

单位的定义：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。

CarE 酶活(U/g)= (△A 测定管-△A 空白管) ×V 反总×（V 样总÷V 样）÷W÷T

= 13.67×(△A 测定管-△A 空白管)÷W。

3、按照细胞数量计算：

单位的定义：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1个酶活单位。

CarE 酶活(U/10^4cell)= (△A 测定管-△A 空白管) ×V 反总×（V 样总÷V 样）÷细胞密度（10^4cell/mL）÷T = 13.67×(△A 测定管-△A 空白管)÷细胞密度（10^4 cell/mL）。

4、按照血清/血浆体积计算：

单位的定义：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。

CarE 酶活(U/mL)= (△A 测定管-△A 空白管) ×V 反总÷V 样÷T

= 13.67×(△A 测定管-△A 空白管)。

V 反总：反应体系总体积，205μL=2.05×10^{-4} L；V 样总：上清液总体积，1mL；V样：加入上清液体积(mL)，0.005 mL；Cpr：蛋白质浓度，mg/mL；W：样品质量（g）；

T：反应时间（min），3min。