

羧酸酯酶 (carboxylesterase, CarE) 活性测定试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

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物质与外源性物质水解，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。

测定原理：

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。

组成：

产品名称	ES003-50T/48S	Storage
试剂一：液体	50ml	4°C
试剂二：液体	30ml×2	4°C
试剂三：粉剂	2 支	4°C
试剂四：粉剂	2 支	-20°C
说明书	一份	

试剂三：粉剂×2 支，4°C 保存，临用前取 1 支试剂三，加 1.2ml 无水乙醇充分溶解；

试剂四：粉剂×2 支，-20°C 保存，临用前取 1 支试剂四，加少量试剂二溶解；

工作液配制：临用前配制，向 1 瓶试剂二中，加入溶解后的试剂三和试剂四各 1 支，充分溶解，过滤，4°C 避光保存，可用 1 周。

自备仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1 ml 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

样本的前处理：

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 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°C 离心 30min，取上清液待测。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线：0518-81263339

官网：<http://www.bio149.com>

2、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°C离心 30min, 取上清液待测。

3、液体：直接测定。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min, 调节波长到 450 nm, 蒸馏水调零。

2. 试剂二置于 37°C水浴中预热 30 min。

3. 空白管：取 1ml 玻璃比色皿, 依次加入 **5μl 蒸馏水**和 1000μl 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

4. 测定管：取 1ml 玻璃比色皿, 依次加入 **5μl 上清液**和 1000μl 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

注意：空白管只需测定一次。

CarE 活性计算公式:

1、组织中 CarE 活性

(1) 按照蛋白浓度计算

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。

$$\text{CarE 酶活(U/mg prot)} = (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \times V \text{ 反总} \div (\text{Cpr} \times V \text{ 样}) \div T \\ = 67 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \text{Cpr}$$

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: 1.005ml; 蛋白质浓度需要另外测定, 建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

(2) 按照样品质量计算

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。

$$\text{CarE 酶活(U/g 鲜重)} = (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \times V \text{ 反总} \times (V \text{ 样总} \div V \text{ 样}) \div W \div T \\ = 67 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div W$$

V 样总: 上清液总体积, 1 ml; V 样: 加入上清液体积(ml), 0.005 ml; V 反总: 1.005ml; W: 样品质量 (g); T: 反应时间 (min), 3min。

2、细菌或细胞中 CarE 活性

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。

$$\text{CarE 酶活(U/10}^4 \text{ cell)} = (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \times V \text{ 反总} \times (V \text{ 样总} \div V \text{ 样}) \div \text{细胞密度 (10}^4 \text{ cell/ml)} \div T \\ = 67 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \text{细胞密度 (10}^4 \text{ cell/ml)}$$

V 总: 上清液总体积, 1 ml; V 样: 加入上清液体积(ml), 0.005 ml; V 反总: 1.005ml ; T: 反应时间 (min), 3min。

3、液体中 CarE 活性

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。

$$\text{CarE 酶活(U/ml)} = (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \times V \text{ 反总} \div V \text{ 样} \div T \\ = 67 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管})$$



V 样总：上清液总体积，1 ml；V 样：加入上清液体积(ml)，0.005 ml；V 反总：1.005ml；T：反应时间 (min)，3min。

