

CheKine™ 羧酸酯酶（CarE）活性检测试剂盒（微量法）

Cat #: KTB2301

Size: 48 T/48 S 96 T/96 S

	羧酸酯酶（CarE）活性检测试剂盒（微量法）		
REF	货号：KTB2301	LOT	批号：见产品标签
	适用样本：动物组织、血清（浆）或其他液体		
	保质期：-20℃避光保存 6 个月		

原理

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。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。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	60 mL×2	4℃
Reagent I	15 mL	15 mL×2	4℃
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×2 vials	4℃，避光保存
Reagent III	Powder×1 vial	Powder×2 vials	-20℃，避光保存

注意：正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或可见分光光度计（能测 450 nm 处的吸光度）
- 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
- 恒温水浴锅、制冰机、离心机
- 去离子水、无水乙醇
- 匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

Extraction Buffer: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃保存。

Reagent I：即用型；使用前，平衡到室温。4℃保存。

Working Reagent II：临用前配制；取一支 Reagent II 向其中加入 0.6 mL 无水乙醇充分溶解待用；现配现用。

Working Reagent III：临用前配制；取一支 Reagent III 向其中加入少量 Reagent I 充分溶解待用；现配现用。

注意：Reagent II 和 Reagent III 有毒且有刺激性气味，建议在通风橱进行实验。

Working Reagent：临用前配制，向一瓶 Reagent I 中，加入 Working Reagent II 和 Working Reagent III 各一支，充分溶解，过滤至空瓶中（48T 带有 1 个空瓶，96T 带有 2 个空瓶），4℃避光可保存 1 周。

样本制备

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。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

1. 动物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，12,000 g，4℃离心 30 min，取上清液，置冰上待测。
2. 血清（浆）等液体样本：直接测定。若溶液有浑浊则离心后取上清进行测定。

注意：如需测定蛋白浓度，推荐使用 Abbkine 货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30 min，调节波长到 450 nm。可见分光光度计用去离子水调零。
2. 根据实验用量，取出部分 Working Reagent 置于 37℃预热 30 min。
3. 操作表（下述操作在 96 孔板或微量玻璃比色皿中进行）：

试剂	空白孔 (μL)	测定孔 (μL)
去离子水	5	0
样本上清	0	5
Working Reagent	200	200

迅速混匀，于 450 nm 处测定 10 s 的吸光值 A_1 与 190 s 的吸光值 A_2 ，计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

注意：反应温度需保持在 37℃，一般酶标仪有控温功能，可直接设置成 37℃，待温度上升至 37℃后即可开始试验。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 过小可适当加大样本量或适当延长反应时间至 5 min 或 10 min 后检测。如果 ΔA 大于 1.0，样本可用 Extraction Buffer 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

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

CarE 活性的计算：

(1) 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白在 37℃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。

$$\text{CarE (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 13.67 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织在 37℃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。

$$\text{CarE (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div T = 13.67 \times \Delta A \div W$$

(3) 按样本体积计算：

单位的定义：每 mL 样品在 37℃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。

$$\text{CarE (U/mL)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 13.67 \times \Delta A$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.205 mL； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中样本体积，0.005 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入 Extraction Buffer 体积，1 mL；W：样本质量，g；T：反应时间，3min。

注意事项

- 1. Working Reagent 若变为褐色视为变质，不可用。
- 2. 为保证反应时间的准确性，建议逐一比色；如想用 96 孔板对多样本同时检测，建议使用排枪，且一次最多 8 个或 12 个孔（8 道排枪或 12 道排枪）。

结果展示

以下数据仅供参考，实验者需根据自己的实验对样品进行检测。

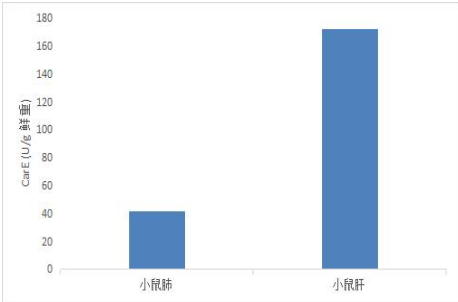


Figure 1. 本试剂盒测定小鼠肺和小鼠肝脏中 CarE 的活性

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1015	CheKine™ α-葡萄糖苷酶活性检测试剂盒（微量法）
KTB1121	CheKine™ 丙酮酸（PA）含量检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。