

羧酸酯酶（CarE）测试盒

比色法 50T/48 样

一、测定原理

羧酸酯酶能催化乙酸-1-萘酯生成萘酯，固蓝显色,在 450nm 检测光吸收速率来监测萘酯生成速率，从而计算 CarE 活性。

二、自备仪器用品

可见分光光度计、低温离心机、水浴锅、可调式移液器枪、1ml 玻璃比色皿、无水乙醇和蒸馏水。

三、试剂组成和配制: 未开封产品 3 个月内有效

试剂一: 液体 50ml×1 瓶, 4℃保存

试剂二: 液体 30ml×2 瓶, 4℃保存

试剂三: 粉剂×2 支, 4℃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℃保存

工作液配制: 临用前取试剂二 1 瓶, 取少量试剂二加入到 1 支试剂四中溶解, 然后把溶解的 1 支试剂四和 1 支试剂三加入到该瓶试剂二中, 混匀充分, 过滤, 4℃避光保存, 可用 1 周。

四、样本前处理

样本提取详见试剂盒内说明书。测定细菌、组织和细胞时需要测定蛋白浓度。可用的总蛋白定量测试盒（考马斯亮蓝法）或者总蛋白定量测试盒(BCA 法)进行蛋白浓度的测定。

五、测定步骤

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

2、工作液在 37℃中预热 30min 以上。

3、**空白管:** 依次在 1ml 玻璃比色皿中依次加入 5 μl 蒸馏水, 1000 μl 预热的工作液, 迅速混匀后在 450nm 测定 10s 和 190s 光吸收 A1 和 A2, ΔA 空白管=A2-A1。注意: 空白管只需做 1-2 次。

4、**测定管:** 依次在 1ml 玻璃比色皿中依次加入 5 μl 上清液, 1000 μl 预热的工作液, 迅速混匀

后在 450nm 测定 10s 和 190s 光吸收 A3 和 A4, ΔA 测定管=A4-A3。