

碳酸酐酶（CAr）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1952BKM

规格：48T/24S 96T/48S

检测方法：比色法

储存条件：-20℃避光保存 6 个月

💡 建议正式实验前，选取 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验，如果样本吸光值不在检测范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

一、产品简介

研究背景：碳酸酐酶（Carbonic Anhydrase, CAr）是一种以 Zn^{2+} 为活性中心的金属酶，可用来高效催化 CO_2 的可逆水合反应： $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ ，催化速率可达自然条件下的 10^7 倍，是目前已知催化速率最快的酶之一。

检测原理：本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于分析各种生物样品中碳酸酐酶的活性。其原理是碳酸酐酶可分解乙酸对硝基苯酯生成对硝基苯酚，后者在 405nm 有最大吸收峰，通过测定吸光值升高速率来计算碳酸酐酶活性。

📊 **检测意义：**肿瘤诊断、预后评估、靶向治疗、生态监测。

🔑 **适用样本：**动植物组织、细胞、细菌。

二、产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃保存
试剂二	10mL	20mL	4℃保存
试剂三	10mL	20mL	4℃保存
标准品	1mL	1mL	4℃保存

三、需自备的仪器和用品

📖 酶标仪或可见光分光光度计（能测 405nm 处的吸光度）及水浴锅、96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头、离心机、制冰机、去离子水、匀浆器。（如果是组织样本）

四、试剂准备

提取液：即用型；4℃保存。

试剂一：临用前每瓶加入 6mL 去离子水，充分溶解备用；用不完的试剂分装-20℃保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

标准品：标准品为 5mM ($\mu\text{mol/mL}$) 的对硝基苯酚溶液，使用前，平衡到室温；4℃保存。

标准曲线设置：按下表所示，用去离子水将 5 $\mu\text{mol/mL}$ 标准品稀释为 1000、500、250、125、62.5、

31.25、15.6 nmol/mL 标准溶液 的标准溶液。

	标准品体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	标准品浓度 (nmol/mL)
标准品 1	40μL of 5μmol/mL	160	1000
标准品 2	100μL of 标准品 1	100	500
标准品 3	100μL of 标准品 2	100	250
标准品 4	100μL of 标准品 3	100	125
标准品 5	100μL of 标准品 4	100	62.5
标准品 6	100μL of 标准品 5	100	31.25
标准品 7	100μL of 标准品 6	100	15.6

⚠ 注意：每次实验，请使用新配制标准品。

五、样本制备

动植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液冰浴匀浆，15,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），15,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

⚠ 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。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

六、实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 405nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 取一定量，如：100μL 制备的样本上清液，沸水浴 5min，冷却至室温。15,000g，4℃离心 10min，再次取上清液作为样本对照管使用。
3. 样本测定：在 EP 管中依次加入下列试剂

	标准 (μL)	空白 (μL)	测定 (μL)	对照 (μL)
试剂一	0	0	120	120
去离子水	120	150	0	0
试剂二	150	150	150	150
标准品	30	0	0	0
样本	0	0	30	30 (煮沸)

迅速混匀，放入 37℃准确水浴 20min 后，立即放入 95℃水浴 5min（盖紧，以防止水分散失）。冷却后充分混匀，8000g，4℃，离心 5min，取上清液 70uL 加入 96 孔板或微量玻璃比色皿中：

	标准 (μL)	空白 (μL)	测定 (μL)	对照 (μL)
上清液	70	70	70	70
试剂三	130	130	130	130

充分混匀，室温静置 2min 后，405nm 处测定吸光值 A，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。每个测定管需设一个对照，空白和标准曲线只需要测一次。

⚠ 注意：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 测小于 0.001 可适当加大样本量。如果 ΔA 测大于 0.4，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

七、结果计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入方程计算出 y 值（nmol/mL）。

2. 样本碳酸酐酶活性计算

(1) 按样本质量计算

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位 U。

$$\text{碳酸酐酶活性(U/g 质量)} = (y \times V_{\text{反总}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.5 \times y \div W$$

(2) 按细菌或细胞数量计算

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞在反应体系中每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位 U。

$$\text{碳酸酐酶活性(U/10}^4 \text{ cell)} = (y \times V_{\text{反总}}) \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.001 \times y$$

(3) 按蛋白浓度计算

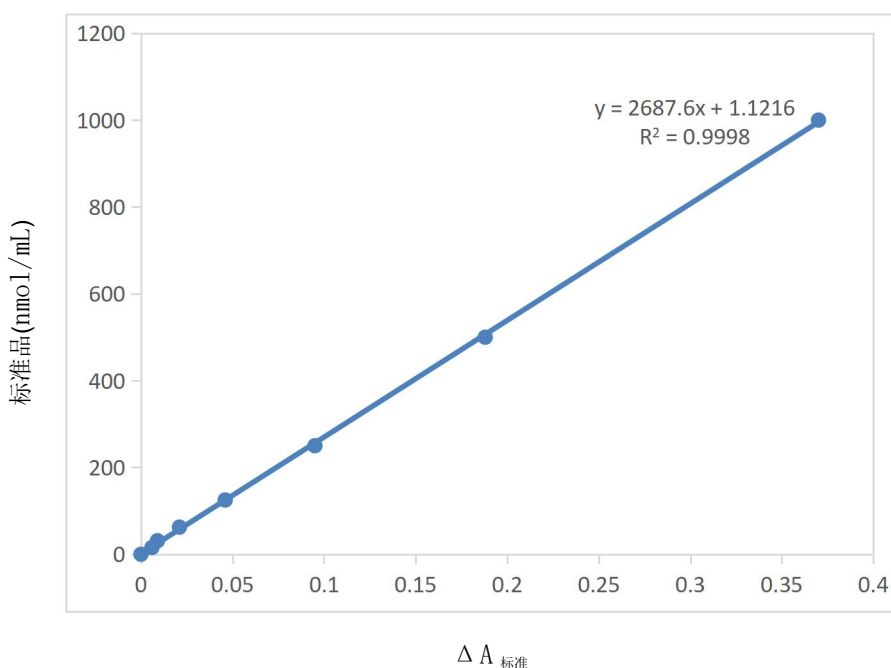
单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位 U。

$$\text{碳酸酐酶活性 (U/mg prot)} = (y \times V_{\text{反总}}) \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.5 \times y \div \text{Cpr}$$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，0.3mL；W：样本质量，g； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.03mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，20min；500：细胞或细菌总数，500 万；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL。

结果展示

典型标准曲线



附录：常见问题与解决方案 (FAQ)

? 问题	解决措施
计算时如果选择合适的计算公式?	动物组织及细胞微生物等, 可以用质量或者细胞数量计算, 也可以建议测蛋白浓度
	植物可建议用质量计算, 也可以建议测蛋白
	血液或是其他液态样品, 可建议用体积计算
	如客户要购买蛋白含量测定试剂盒, 除了说明书强调用考马斯亮蓝法的, 通常建议 BCA 法。动植物组织因为蛋白含量高, 在 10mg/ml 左右, 如果用考马斯亮蓝法测定蛋白浓度的话通常需要用 PBS 缓冲液等稀释液进行稀释。
测定时如何进行调零?	除说明书中提示用对照管或某种试剂调零外, 都用纯水调零。
试剂盒中样本提取时需要 0.1g 组织, 我的样品量不够怎么办?	通常可以按比例缩小, 如说明书中是约 0.1g 组织加 1ml 提取液, 可以等比例缩小, 如 0.05g 组织加 0.5ml 提取液提取。后续操作不变。
	对于数量少的样品, 一方面可以减少提取液体积, 另一方面还可以延长反应时间。

🔍 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

🔗 相关产品:

PMK1094BKM 乙酰胆碱酯酶 (AChE) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1097BKM 羧酸酯酶 (CarE) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

