

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

碳酸酐酶活性测定试剂盒

Carbonic Anhydrase (CA) Activity Assay Kit

产品货号: BC00068

产品规格: 100T

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们:

✉ 邮箱 (销售) order@enkilife.cn

✉ 邮箱 (技术支持) tech@enkilife.cn

☎ 公司电话 027-87002838

🌐 网址 www.enkilife.cn



订阅微信公众号
获取更多技术
信息及前沿动态

保质期: 请见试剂盒外包装标签。

技术支持: 为了更好地给您提供服务, 联系时请告知产品外包装标签上批号。

基本信息

产品中文名称	碳酸酐酶活性测定试剂盒
产品英文名称	Carbonic Anhydrase (CA) Activity Assay Kit
检测方法	Colorimetric
样品类型	组织、细胞、细菌、液体
检测类型	Enzyme activity
检测仪器及波长	酶标仪 (405 nm)
检测范围	0.625-10U/mL
灵敏度	0.217U/mL

产品简介

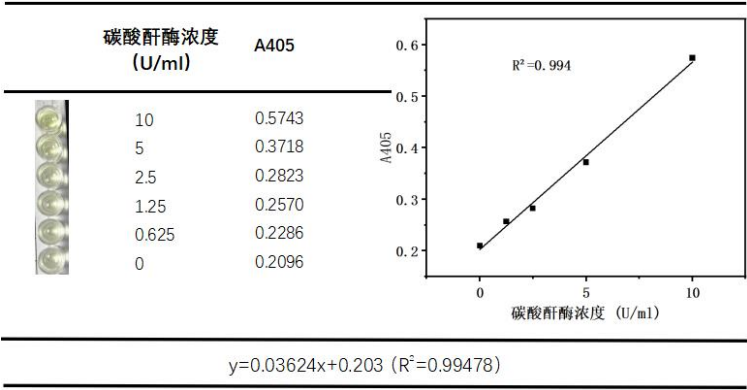
碳酸酐酶 (Carbonic Anhydrase, CA) 是一种以 Zn^{2+} 为活性中心的金属酶，可用来高效催化 CO_2 的可逆水合反应： $CO_2 + H_2O \rightleftharpoons HCO_3^- + H^+$ ，催化速率可达自然条件下的 107 倍，是目前已知催化速率最快的酶之一。

检测原理

碳酸酐酶可催化乙酸对硝基苯酯反应生成淡黄色对硝基苯酚，通过检测 405nm 处吸光值上升速率反映碳酸酐酶活性。



以下标准曲线仅供参考：



产品组分

编号	产品名称	包装规格 (100T)	保存方式
试剂一	提取液	15 mL	-20℃, 开瓶使用后可常温保存。
试剂二	酶溶液	1mL/支, 两支	-20℃, 开瓶使用后 4℃ 保存。
试剂三	底物工作液	3 mL	-20℃
耗材一	96 孔酶标板	1 板	RT
耗材二	96 孔覆膜	2 张	RT

保存条件

未拆封的试剂盒可在 -20℃保存 12 个月。

实验前准备

• 样品处理

1. 组织：按照组织质量 (g)：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
2. 细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（10⁴ 个）：提取液体积 (mL) 为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次），8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
3. 液体：直接测定。（若溶液呈现浑浊，则离心取上清后再测定）。

• 试剂盒的准备工作

1. 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温，需要自备双蒸水。

- 2. 不同浓度酶溶液的稀释：按试剂二：试剂一 = 1：99 的比例进行混合配制成试剂二工作液，将试剂二工作液用试剂一按照对半稀释法，稀释成不同浓度如 10、5、2.5、1.25、0.625、0.15625、0U/ml。
- 3. 试剂三工作液配置：临用前按试剂三：双蒸水=3：22 的比例进行混合配制成试剂三工作液，现用现配。

操作流程

- 1. 标准管：取 100μL 不同浓度的酶溶液标准品，加入酶标板。
- 2. 测定管：取 100μL 待测样本加入酶标板。
- 3. 向步骤(1)中的各孔迅速加入 150 μL 试剂三工作液。
- 4. 酶标仪 37℃ 预热 3 min, 酶标仪 405nm 波长, 测定 OD 值, 得到 A₁ , 37℃ 孵育 20min, 再次测 OD 值，得到 A₂，取两次吸光度之差，ΔA=A₂-A₁。

操作表如下：

	标准孔	测定孔
标准品(μL)	100	--
待测样本(μL)	--	100
试剂三工作液(μL)	150	150
酶标仪 37℃ 预热 3 min, 酶标仪 405nm 波长, 测定 OD 值, 得到 A ₁ , 37℃ 孵育 20min, 再次测 OD 值，得到 A ₂ ，取两次吸光度之差，ΔA=A ₂ -A ₁		

结果计算

- 1. 计算出碳酸酐酶活性的绝对活性，可通过不同浓度碳酸酐酶标准品及相应测得的吸光度值绘制标准曲线，通过标准曲线相应公式计算出样品中碳酸酐酶的活性。
- 2. 以检测两次的吸光度(OD405)之差为纵坐标，碳酸酐酶活力(U/mL)为横坐标，绘制碳酸酐酶标准曲线。同时计算出该趋势线的公式。

3. $A_{405nm} = k \times \text{碳酸酐酶活力单位}(U) + b$, 通过 Excel 等软件计算出趋势线的斜率 k 和截距 b 。根据上述公式计算样品中碳酸酐酶活力。

样品实际吸光度(OD405) $\Delta A = A_2 - A_1$

检测体系中碳酸酐酶活力单位(U) = (OD405 - b) / k

样品中碳酸酐酶活力(U/ml) = 检测体系中碳酸酐酶活力单位(U) / 检测样品体积

注意事项

1. 如果 A_1 测定大于 0.5 或者 ΔA 大于 1, 可以用蒸馏水对样本进行稀释或者缩短 37°C 酶促反应时间, ΔA 小于 0.02, 可以加大样本量或者延长 37°C 酶促反应时间。
2. 试剂盒仅供研究使用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于药品或食品, 不得存放于普通住宅。
3. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器, 严格按照说明书进行实验。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低, 请对样品做适当的稀释或浓缩。