



红霉素-N-脱甲基酶 (ERND) 活性检测试剂盒

Erythromycin-N-Demethylase (ERND) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## 红霉素-N-脱甲基酶 (ERND) 活性检测试剂盒

### Erythromycin-N-Demethylase (ERND) Activity Assay Kit

#### 一、产品描述

细胞色素 P450 酶是一组主要存在于肝脏的酶系，在外源物质代谢中，尤其是药物和毒物的代谢具有重要作用。红霉素-N-脱甲基酶 (ERND) 在 P450 酶系中相当于 CYP2B 亚型，与药物代谢的去甲基化密切相关，具有催化底物形成非活性易于排泄的代谢产物而具有解毒作用。

红霉素-N-脱甲基酶能够催化红霉素释放甲醛，进一步通过 Nash 比色法测定甲醛的含量，即可表征红霉素-N-脱甲基酶的活性。

#### 二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
试剂一	粉剂×1 瓶	4°C保存	使用前加入 50 mL 蒸馏水充分溶解
试剂二	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	粉剂×1 瓶	4°C保存	使用前加入 2.6 mL 蒸馏水充分溶解
试剂四	粉剂×1 瓶	4°C保存	使用前加入 2.6 mL 蒸馏水充分溶解
试剂五	粉剂×1 瓶	4°C保存	使用前加入 9 mL 蒸馏水充分溶解
试剂六	液体 9 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂七	液体 25 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	-20°C保存	5 mmol/L 甲醛标准液
标准应用液的制备：将 5 mmol/L 甲醛标准液使用蒸馏水稀释 100 倍即为 0.05 mmol/L 标准应用液。			

#### 三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、超速离心机、超速离心管、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

##### 1. 粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①除去细胞核和线粒体等大分子物质：称取 0.5 g 组织，加入 1 mL 试剂一（4°C预冷），冰浴匀浆，4°C 10000 g 离心 30 min，取上清液至超速离心管中；

②粗制微粒体：4°C 100000 g 离心 60 min，弃上清液，留沉淀；

③除去血红蛋白等杂质：向步骤②离心沉淀中加入 1 mL 试剂一，充分振荡溶解，4°C 100000 g 离心 30 min，弃上清液，留沉淀；

④微粒体的制备：向步骤③离心沉淀中加入 500 μL 试剂二，充分振荡溶解，即为粗酶液，置于冰上待测。

## 2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 412 nm，蒸馏水调零。

②试验前将试剂二置于 37°C 预热 30 min。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
粗酶液	50	50	-	-
试剂二	850	850	-	-
试剂三	50	50	-	-
试剂四	50	-	-	-
蒸馏水	-	50	-	-
充分混匀，37°C 准确反应 30 min				
试剂五	175	175	-	-
充分混匀，冰浴放置 5 min				
试剂六	175	175	-	-
充分混匀，室温静置 5 min				
8000 g 常温离心 5 min，取上清液				
上清液	500	500	-	-
标准应用液	-	-	500	-
蒸馏水	-	-	-	500
试剂七	500	500	500	500
充分混匀，60°C 反应 10 min，冷却至室温				

**吸光值测定：**将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 412 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个样品均需设一个对照管，标准管和空白管只需测定 1-2 次。

### 3. 红霉素-N-脱甲基酶 (ERND) 活性计算

#### ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：37°C条件下，每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 甲醛定义为一个酶活力单位。

$$\text{ERND (U/mg prot)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反总}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{45 \times \Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

#### ②按组织样本质量计算

单位定义：37°C条件下，每 g 组织样本每分钟生成 1 nmol 甲醛定义为一个酶活力单位。

$$\text{ERND (U/g)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{22.5 \times \Delta A_{\text{测定}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

**注释：** C 标：标准应用液浓度，0.05 mmol/L=50 nmol/mL；V 反总：反应体系总体积，1.35 mL；

V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.05 mL；V 样总：粗酶液总体积，0.5 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，30 min。

#### 四、注意事项

为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

**boxbio**

**Manufactured and Distributed by**

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

