



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 100 mL 蒸馏水充分溶解
试剂二	液体 50 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	粉剂×1 瓶	4°C保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解
试剂四	粉剂×1 瓶	4°C保存	使用前加入 0.5 mL 蒸馏水充分溶解
试剂五	粉剂×1 瓶	4°C保存	使用前加入 4.5 mL 蒸馏水充分溶解
试剂六	液体 4 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂七	液体 10 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 (现用现配): 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/酶标仪、微量玻璃比色皿 (光径 10 mm) /96 孔板、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分光光度计或酶标仪预热 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	测定组 (μL)	对照组 (μL)	标准组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	10	10	-	-
试剂二	170	170	-	-
试剂三	10	10	-	-
试剂四	10	-	-	-
蒸馏水	-	10	-	-
充分混匀，37°C 准确反应 30 min				
试剂五	35	35	-	-
充分混匀，冰浴放置 5 min				
试剂六	35	35	-	-
充分混匀，室温静置 5 min				
8000 g 常温离心 5 min，取上清液				
96 孔板中依次加入下列试剂：				
上清液	100	100	-	-
标准应用液	-	-	100	-
蒸馏水	-	-	-	100
试剂七	100	100	100	100
充分混匀，60°C 反应 10 min，冷却至室温				

吸光值测定：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 ΔA 测定 = A 测定 - A 对照， ΔA 标准 = A 标准 - A 空白。注：每个样品均需设一个对照组，标准组和空白组只需测定 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，0.27 mL；

V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 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.

