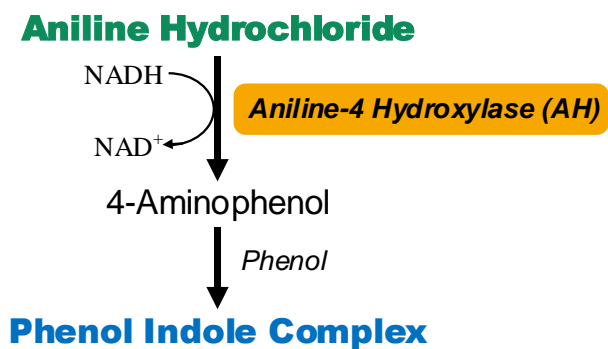




苯胺-4 羟化酶 (AH) 活性检测试剂盒
Aniline-4 Hydroxylase (AH) Activity Assay Kit



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



苯胺-4 羟化酶 (AH) 活性检测试剂盒

Aniline-4 Hydroxylase (AH) 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。苯胺-4 羟化酶 (AH) 在 P450 酶系中相当于 CYP2E1 亚型，主要参与药物代谢和体内外化学物质的代谢，主导催化芳香胺类化合物的羟化反应，同时也参与了部分化学物质的致癌活性的激活过程，在毒理学研究中具有重要的作用。

苯胺-4 羟化酶能够催化苯胺生成 4-氨基酚，进一步转变为酚-吡啶复合物，产物在 630 nm 处具有特征吸收峰，通过测定吸光值变化速率即可表征苯胺-4 羟化酶的活性。

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×2 瓶	4°C 保存	使用前每瓶加入 60 mL 蒸馏水充分溶解 (配制后 4°C 可保存一个月)
试剂二	液体 30 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三	粉剂×2 瓶	4°C 保存	使用前每瓶加入 6 mL 蒸馏水充分溶解 (配制后 -20°C 可保存 2 周，避免反复冻融)
试剂四	粉剂×1 瓶	4°C 保存	使用前加入 3 mL 蒸馏水充分溶解 (配制后 4°C 可保存一个月)
试剂五	液体 11 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂六	粉剂×2 瓶	4°C 保存	使用前每瓶加入 6 mL 蒸馏水充分溶解 (配制后 4°C 可保存一个月)
试剂七	液体 12 mL×1 瓶	4°C 保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C 保存	10 nmol/mL 4-氨基酚标准液

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/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/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℃预冷），冰浴匀浆，4℃ 10000 g 离心 30 min，取上清液转移至超速离心管中；

②粗制微粒体：4℃ 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℃ 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 630 nm，蒸馏水调零。

②试验前将试剂五置于冰浴冷却 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	-	-
试剂三	100	100	-	-
试剂四	50	-	-	-
蒸馏水	-	50	-	-
充分混匀，37℃准确反应 30 min				
试剂五	100	100	-	-
充分混匀，冰浴放置 5 min				
10000 g 常温离心 10 min，取上清液				
上清液	100	100	-	-
标准液	-	-	100	-
蒸馏水	-	-	-	100
试剂六	100	100	100	100
试剂七	100	100	100	100
充分混匀，室温静置 30 min				

吸光值测定：吸取 200 μL 反应液至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定 630 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. 苯胺-4 羟化酶 (AH) 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 4-氨基酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{AH (U/mg prot)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{上总}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{2 \times \Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

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 4-氨基酚定义为一个酶活力单位。

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

注释： C 标：标准液浓度，10 nmol/mL；V 上总：反应体系中上清液总体积，0.3 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

- ①若 A 测定 > 1.2 或 ΔA 测定 > 1.0 时，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；
- ②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.

