



微信公众号

 400-901-9800

 sales@bioss.com.cn

 techsupport@bioss.com.cn

红霉素-N-脱甲基酶活性检测试剂盒

ERND Assay Kit

分光光度法
产品编号：AK526V
产品规格：50T/24S
产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK526-A	粉剂×1 瓶	4℃保存；临用前加 50mL 蒸馏水充分溶解。
AK526-B	液体×1 瓶	4℃保存；
AK526-C	粉剂×1 瓶	4℃保存；临用前加入 2.6mL 蒸馏水，充分溶解。
AK526-D	粉剂×1 瓶	4℃保存；临用前加入 2.6mL 蒸馏水，充分溶解。
AK526-E	粉剂×1 瓶	4℃保存；临用前，加蒸馏水 9 mL 充分溶解。
AK526-F	液体×1 瓶	4℃保存；
AK526-G	液体×1 瓶	4℃保存；
AK526-S	液体×1 瓶	-20℃保存。临用前取 AK526-S 10μl+ 990μl 蒸馏水，混匀即为 0.05 mmol/L 标准甲醛溶液，4℃保存。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：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（Erythromycin N-demethylase, 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。CYP2B 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，也可使某些药物经 CYP2B 代谢活化。

原理：ERND 催化红霉素释放甲醛，通过 Nash 比色测定甲醛含量，即可计算出 ERND 活性。

自备用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、普通离心机、超速离心机、可调式移液枪、蒸馏水和冰。

粗酶液提取：

- 除去细胞核和线粒体等大分子物质：**称约 0.5g 组织，加入 1 mL 4℃预冷的 AK526-A，冰上充分研磨，10 000g 4℃离心 30min，取上清液转入超速离心管。
- 粗制微粒体：**4℃，100 000g，离心 60min，弃上清液。
- 除血红蛋白等杂质：**向步骤 2 的沉淀中加 1 mL AK526-A，盖紧后充分震荡溶解，100 000g 离心 30min，弃上清液。
- 最终微粒体：**向步骤 3 的沉淀中加 AK526-B 0.5 mL，盖紧后充分震荡溶解，4℃保存待测。
- 该待测液需当天使用。**

测定步骤：

- 分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 412 nm，蒸馏水调零。
- AK526-B 在 37℃水浴中预热 30min。
- 取 1.5 mL EP 管依次加入下列试剂：

	对照管 (μL)	测定管 (μL)	标准管 (μL)
粗酶液	50	250	
AK526-B	850	850	
AK526-C	50	50	

AK526-D		50	
蒸馏水	50		
混匀后 37℃水浴中保温 30min; 立即加入			
AK526-E	175	175	
混匀后置于冰浴中 5min; 取出后加入			
AK526-F	175	175	
混匀后室温静置 5min; 室温 8000rpm 离心 5min; 取上清液加入新的 1.5 mL EP 管			
上清液	500	500	
标准品			500
AK526-G	500	500	500
混匀后 60℃水浴 10min , 然后取出, 用冷水冷却 5min, 于 412nm 测定光吸收, 记为 A 对照管、A 测定管、A 标准管。			

注意：每个样品都需要做对照管。

ERND 活性计算公式：

1. 按蛋白浓度计算

活性单位定义：37℃下，每分钟每毫克蛋白催化产生 1nmol 甲醛为 1 个酶活单位。

ERND 活性 (U/mg prot)

$$\begin{aligned} &= C \text{ 标准品} \times V \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管}-A \text{ 对照管}) \div A \text{ 标准管} \times \text{稀释倍数} \div (Cpr \times V \text{ 样}) \div T \\ &= 45 \times (A \text{ 测定管}-A \text{ 对照管}) \div A \text{ 标准管} \div Cpr. \end{aligned}$$

2. 按样本鲜重计算

活性单位定义：37℃下，每分钟每克样品催化产生 1nmol 甲醛为 1 个酶活单位。

ERND 活性(U/g 鲜重)

$$\begin{aligned} &= C \text{ 标准品} \times V \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管}-A \text{ 对照管}) \div A \text{ 标准管} \times \text{稀释倍数} \div (W \times V \text{ 样}) \div T \\ &= 45 \times (A \text{ 测定管}-A \text{ 对照管}) \div A \text{ 标准管} \div W \end{aligned}$$

注： C 标准品：0.05 mmol/L=50μmol/L；V 标准品：500μL=0.0005 L；稀释倍数：V 反总÷V 上清液=(50+850+50+50+175+175)÷500=2.7；Cpr：粗酶液蛋白质浓度，mg/mL，需要另外测定，建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒；V 样：加入粗酶液体积，50μL=0.05mL；W：样本质量，g；T：催化反应时间，30min。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))