（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-F023

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：荧光酶标仪(激发波长 390 nm，发射波长 468 nm)

Elabscience®细胞色素 P450 2D6 酶（CYP2D6）荧光法测试盒

Cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) Activity Fluorometric Assay Kit

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：

电话：400-999-2100
邮箱：biochemical@elabscience.cn
网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测肝微粒体样本中的细胞色素 P450 2D6 酶(CYP2D6)的活力。

检测原理

细胞色素 P450 2D6 酶（Cytochrome P450 2D6，CYP2D6）是细胞色素 P450 酶家族的一员，负责代谢人体内大约 25%的药物，主要在肝脏中表达。CYP2D6 对许多临床上重要的药物具有显著的代谢作用，包括抗抑郁药、抗精神病药、β-阻滞剂和止痛药等。它通过氧化反应将这些药物转化为更易排泄的代谢产物。CYP2D6 在药物代谢中的关键作用和个体差异的显著影响，使得检测该酶的活性对于个体化医疗具有重要意义。

本试剂盒检测原理：底物经过 CYP2D6 催化后转化荧光物质，在激发波长 390 nm，发射波长 468 nm 处检测荧光值，通过标准品荧光值计算酶活。

本试剂盒检测肝微粒体样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（货号：E-BC-K318-M）。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	50 mL×1 瓶	50 mL×2 瓶	-20°C 避光保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	提取液 (Extraction Solution)	50 mL×1 瓶	50 mL×2 瓶	-20°C 避光保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	稀释液 (Diluent Solution)	50 mL×1 瓶	50 mL×2 瓶	-20°C 避光保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	底物 (Substrate)	0.02 mL×2 支	0.02 mL×4 支	-20°C 避光保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	还原剂 (Reducing Reagent)	0.5 mL×1 支	1 mL×1 支	-20°C 避光保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	0.25 mL×1 支	0.5 mL×1 支	-20°C 避光保存 6 个月
试剂七 (Reagent 7)	5 mmol/L 标准品溶液 (5 mmol/L Standard Solution)	0.5 mL×1 支	1 mL×1 支	-20°C 避光保存 6 个月
	96 孔黑色酶标板	96 孔×1 块		无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：荧光酶标仪(激发波长 390 nm，发射波长 468 nm)、37°C 恒温箱

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温(25°C)。

② 底物工作液的配制：

取一支试剂四离心(25°C，500 g，3 min)，加入1 mL试剂一混匀，按需配制，现配现用，避光待用，当天使用有效。

③ 测定工作液的配制：

将试剂一：试剂五：试剂六按体积比=44：5：1配制，按需配制，现配现用，避光待用，当天使用有效。

④ 200 μmol/L标准品的配制：

将试剂七：试剂一按体积比=1：24配制，按需配制，现配现用，避光待用，当天使用有效。

⑤ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(μmol/L)	**0**	**40**	**60**	**80**	**120**	**140**	**160**	**200**
200 μmol/L 标准品(μL)	0	40	60	80	120	140	160	200
试剂一(μL)	200	160	140	120	80	60	40	0

样本准备

① 样本处理

肝微粒体提取：称取0.05 g的肝组织加入0.45 mL试剂二匀浆处理，4ºC，7800 × g，离心20 min，取上清。4ºC，21000 × g，离心45 min，弃上清，向沉淀物中加入0.9 mL试剂三上下吹打，混匀，制备成10%肝微粒体悬液样本。留取部分肝微粒体悬液样本进行蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.29-4.42 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数
10%小鼠肝微粒体	不稀释

注：稀释液为试剂三。

操作步骤

① 标准孔：取 20 μL 不同浓度的标准品溶液，分别加入相应的酶标孔中。测定孔：取 20 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。

② 向步骤①中各孔加入 30 μL 底物工作液。

③ 向步骤②中各孔加入 50 μL 测定工作液。

④ 振板 5 s，荧光酶标仪设置激发波长 390 nm，发射波长 468 nm，立即检测测定孔荧光值，记为 F_1。

⑤ 37°C 避光孵育 45 min，相同波长条件下检测各孔荧光值，记为 F_2。

操作表

	标准孔	测定孔
不同浓度的标准品溶液(μL)	20	--
待测样本(μL)	--	20
底物工作液(μL)	30	30
测定工作液(μL)	50	50
振板 5 s，荧光酶标仪设置激发波长 390 nm，发射波长 468 nm，立即检测测定孔荧光值，记为 F_1。37°C 避光孵育 45 min，相同波长条件下检测各孔荧光值，记为 F_2。		

本试剂盒检测肝微粒体样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

结果计算

标准品拟合曲线：y = ax + b

肝微粒体样本中细胞色素 P450 2D6 酶(CYP2D6)活力计算公式：

定义：37°C 条件下，每克肝微粒体蛋白每分钟催化底物产生 1 μmol 的产物所需要的酶活为一个活力单位。

$$\text{CYP2D6 活力 (U/gprot)} = (\Delta F - b) \div a \div T \times f \div C_{pr}$$

注解:

y：标准品荧光值-空白荧光值(标准品浓度为 0 时的荧光值，标准曲线以标准孔 F_2 值进行拟合)

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

ΔF：样本测定孔变化荧光值，$F_2 - F_1$

T：反应时间，45 min

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

C_{pr}：待测样本的蛋白浓度，gprot/L

附录1 关键数据

1. 技术参数

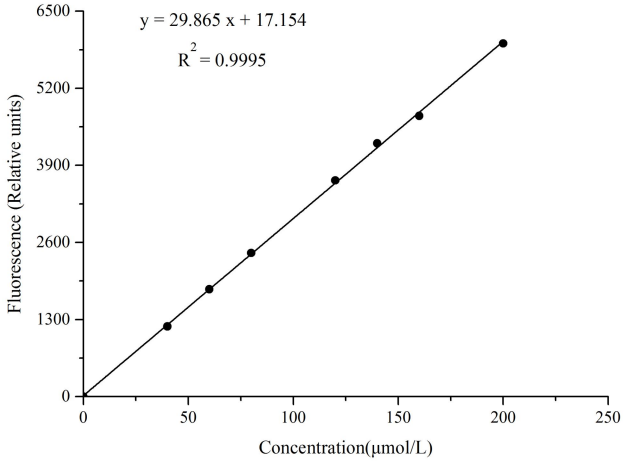
检测范围	0.29-4.42 U/L	**批间差**	9.0-9.9%
灵敏度	0.29 U/L	**批内差**	2.1-3.1%
稀释回收率	91-101%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量20 μL，按照操作步骤进行实验，荧光值如下表所示：

标准品浓度 (μmol/L)	**0**	**40**	**60**	**80**	**120**	**140**	**160**	**200**
荧光值	208	1416	2052	2646	3857	4533	5008	6225
	216	1377	1994	2623	3862	4435	4888	6115
平均荧光值	212	1397	2023	2634	3859	4484	4948	6170
绝对荧光值	0	1184	1811	2422	3647	4272	4735	5958

② 绘制标曲(如下图)：



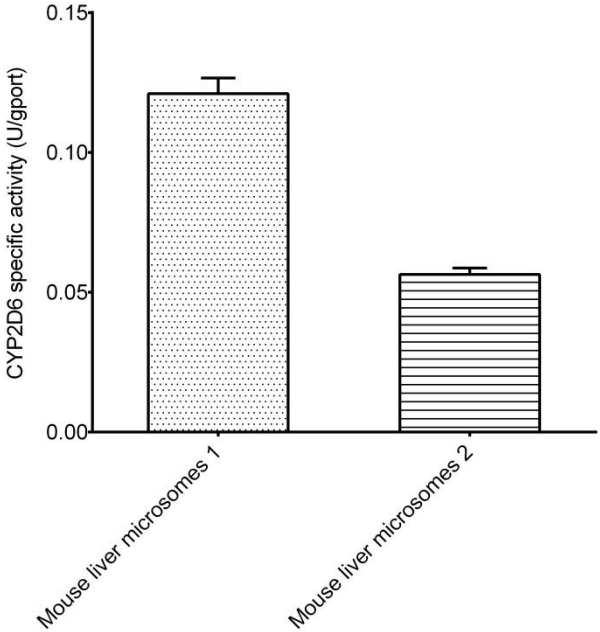
附录2 实例分析

例如小鼠肝微粒体 (数据仅供参考)：

取20 μL 10%小鼠肝微粒体样本加入到酶标板孔中，按操作表操作，结果如下：标准曲线为y = 29.865 x + 17.154，测定孔荧光值F_1为317，F_2为1463，$\Delta F = F_2 - F_1 = 1463 - 317 = 1146$，测定出小鼠肝微粒体悬液样本的蛋白含量为6.94 gprot/L，计算结果为：

CYP2D6活力(U/gprot) = (1146 – 17.154) ÷ 29.865 ÷ 45 ÷ 6.94 = 0.121 U /gprot

按说明书操作，测定小鼠肝微粒体1(蛋白浓度为6.94 gprot/L，加样量20 μL)、小鼠肝微粒体2(蛋白浓度为14.88 gprot/L，加样量20 μL)中的CYP2D6活力(如下图)：



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 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。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
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，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。