

NADPH-细胞色素C还原酶（NCR）活性检测试剂盒 （可见分光光度法）

产品货号：BA1234

产品规格：50管/48样

产品简介：

细胞色素P450酶是一组主要存在于肝脏的同工酶，在外源物质代谢中具有重要作用，尤其是药物和毒物的代谢。NCR作为P450酶系的重要一员，催化氧化型P450还原再生。

NCR催化NADPH还原氧化型细胞色素c生成还原型细胞色素c，还原型细胞色素c在550nm处有特征吸收峰；通过测定550nm吸光度的增加速率，来计算NCR活性。

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体×1瓶	4℃
试剂二	液体×1瓶	4℃
试剂三	粉剂×1瓶	-20℃
试剂四	粉剂×1瓶	4℃

溶液的配制：

1. 试剂三：临用前加2.60mL蒸馏水充分溶解，4℃保存。
2. 试剂四：临用前加入550 μ L蒸馏水充分溶解，4℃保存。

需自备的仪器和用品：

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

操作步骤：

一、粗酶液提取：

1. 除去细胞核和线粒体等：称约0.5g组织，加入4℃预冷的1mL试剂一，冰上充分研磨，10000g 4℃离心30min，取上清液，转移到超速离心管中。
2. 粗制微粒体：4℃，10000g，离心60min，弃上清液。
3. 除血红蛋白等杂质：向步骤2的沉淀中加1mL试剂一，盖紧后充分震荡溶解，10000g离心30min，弃上清液。
4. 最终微粒体：向步骤3的沉淀中加试剂二0.5mL，盖紧后充分震荡溶解，4℃保存待测。

二、测定操作：

1. 分光光度计预热30min，调节波长到550nm，蒸馏水调零。
2. 试剂二在37℃水浴中预热30min。
3. 空白管：取1mL玻璃比色皿，依次加入50 μ L蒸馏水、900 μ L试剂二、50 μ L试剂三和10 μ L试剂四，迅速混匀后于550nm处测定2min内吸光值变化，第10s和第130s吸光值分别记为A1和A2， ΔA 空白管=A2-A1。
4. 测定管：取1mL玻璃比色皿，依次加入50 μ L粗酶液、900 μ L试剂二、50 μ L试剂三和10 μ L试剂四，迅速混匀后于550nm处测定2min内吸光值变化，第10s和第130s吸光值分别记为A3和A4， ΔA 测定管=A4-A3。

注意：空白管只需做一次。

三、NCR活性计算公式：

- (1) 按照蛋白浓度计算：

活性单位定义：37℃中，每毫克蛋白每分钟催化产生1nmol还原型细胞色素c为1个酶活单。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

$$\begin{aligned} \text{NCR酶活性 (nmol/min/mg prot)} &= (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T \\ &= 529 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

(2) 按照样本质量计算:

活性单位定义: 37°C中, 每克样品每分钟催化产生1nmol还原型细胞色素c为1个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{NCR酶活性 (nmol/min/g)} &= (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 265 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div W \end{aligned}$$

ϵ : 还原型细胞色素C摩尔消光系数, 19100L/mol/cm=0.0191L/ μ mol/cm; d : 比色皿光径, 1cm; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 1010 μ L=0.00101L; Cpr : 上清液蛋白质浓度, mg/mL, 需要另外测定; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中上清液体积, 50 μ L=0.05mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 0.5mL; W : 样本质量, g; T : 反应时间, 2min。

注意事项:

试剂三、试剂四临用前配制, 配好未使用完的4°C可保存两天。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com