

细胞色素b5含量检测试剂盒（微量法）

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。

产品货号：BA1434

产品规格：100管/96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。细胞色素P450和细胞色素b5是P450酶系的两个血红素蛋白，其比值的变化与P450代谢活性密切相关。

氧化型细胞色素b5经连二亚硫酸钠还原后，在424nm处有最大吸收峰，通过测定424nm和490nm处吸光值的差异，即可计算出细胞色素b5的含量。

产品组成：

试剂一：粉剂×2瓶，4℃保存。临用前各加100mL蒸馏水，充分溶解。

试剂二：液体×1瓶，4℃保存。

试剂三：粉剂×1瓶，4℃避光保存。

工作液配制：临用前配制，戴一次性手套，小心打开试剂三瓶盖，加试剂二20mL充分溶解，4℃避光可保存1周。

需自备的仪器和用品：

普通离心机，超速离心机、可调式移液枪、紫外分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、和蒸馏水。

操作步骤：

样品中细胞色素 b5 提取：

1. 除去细胞核，线粒体等大分子物质：称约 0.5g 组织，加入 1mL 试剂一，冰上充分研磨，10000g 4℃离心 30min，取上清液，转入超速离心管中。
2. 粗制微粒体：100000g，4℃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，100000g 离心 30min，弃上清液。
4. 待测液：向步骤 3 的沉淀中加试剂二 0.5mL，盖紧后充分震荡溶解，即待测液，该待测液需当天测定。

细胞色素 b5 含量测定操作：

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min。
2. 工作液置于 25℃水浴中预热 30min。
3. 空白管：取 1mL 玻璃比色皿，加入 10μL 蒸馏水，200μL 工作液，室温静置 2min，424nm 和 490nm 处吸光值，424nm 处吸光值记为 A 空白管 1，490nm 处吸光值记为 A 空白管 2。 ΔA 空白管 = A 空白管 1 - A 空白管 2。
4. 测定管：取 1mL 玻璃比色皿，加入 10μL 待测液，200μL 工作液，室温静置 2min，424nm 和 490nm 处吸光值，424nm 处吸光值记为 A 测定管 1，490nm 处吸光值记为 A 测定管 2。 ΔA 测定管 = A 测定管 1 - A 测定管 2。

注意：只需要做一个空白管。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

样品细胞色素b5含量计算公式:

a. 使用微量石英比色皿测定的计算公式如下

(1) 按蛋白浓度计算

$$\begin{aligned}\text{细胞色素 b5 含量(nmol/mg prot)} &= (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{ 反总} \div (\text{Cpr} \times V \text{ 样}) \\ &= 0.1228 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \text{Cpr}\end{aligned}$$

(2) 按样本质量计算

$$\begin{aligned}\text{细胞色素 b5 含量 (nmol/g 鲜重)} &= (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{ 反总} \times (V \text{ 样总} \div V \text{ 样}) \div W \\ &= 0.0614 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div W\end{aligned}$$

ϵ : 还原型细胞色素 b5 纳摩尔消光系数, $171 \times 10^{-3} \text{L/nmol/cm}$; d : 比色皿光径 (cm), 1cm; V 反总: 反应体系总体积, $210 \mu\text{L} = 2.1 \times 10^{-4} \text{L}$; Cpr : 待测液蛋白质浓度 (mg/mL), 需要另外测定; V 样: 加入反应体系中待测液体积, $10 \mu\text{L} = 0.01 \text{mL}$; V 样总: 待测液总体积, 0.5mL; W : 样品质量 (g)。

b. 使用 96 孔板测定的计算公式如下

(1) 按蛋白浓度计算

$$\begin{aligned}\text{细胞色素 b5 含量(nmol/mg prot)} &= (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{ 反总} \div (\text{Cpr} \times V \text{ 样}) \\ &= 0.2456 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \text{Cpr}\end{aligned}$$

(2) 按样本质量计算

$$\begin{aligned}\text{细胞色素 b5 含量 (nmol/g 鲜重)} &= (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{ 反总} \times (V \text{ 样总} \div V \text{ 样}) \div W \\ &= 0.1228 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div W\end{aligned}$$

ϵ : 还原型细胞色素 b5 纳摩尔消光系数, $171 \times 10^{-3} \text{L/nmol/cm}$; d : 96 孔板光径 (cm), 0.5cm; V 反总: 反应体系总体积, $210 \mu\text{L} = 2.1 \times 10^{-4} \text{L}$; Cpr : 待测液蛋白质浓度 (mg/mL), 需要另外测定; V 样: 加入反应体系中待测液体积, $10 \mu\text{L} = 0.01 \text{mL}$; V 样总: 待测液总体积, 0.5mL; W : 样品质量 (g)。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>