

# 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	粉剂×1瓶	4°C
试剂二	液体×1瓶	4°C
试剂三	粉剂×1瓶	-20°C
试剂四	粉剂×1瓶	4°C

### 溶液的配制：

1. 试剂一：临用前加入100mL蒸馏水充分溶解。
2. 试剂三：临用前加2.60mL蒸馏水充分溶解，4°C保存。
3. 试剂四：临用前加入550μL蒸馏水充分溶解，4°C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°C预冷的1mL试剂一，冰上充分研磨，10000g 4°C离心30min，取上清液，转移到超速离心管中。
2. 粗制微粒体：4°C，100000g，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. 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°C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°C水浴中预热30min。
3. 空白管：取1mL玻璃比色皿，依次加入50μL蒸馏水、900μL试剂二、50μL试剂三和10μL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， $\Delta A_{\text{空白管}} = A_2 - A_1$ 。
4. 测定管：取1mL玻璃比色皿，依次加入50μL粗酶液、900μL试剂二、50μL试剂三和10μL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， $\Delta A_{\text{测定管}} = A_4 - A_3$ 。

注意：空白管只需做一次。



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

### 三、NCR活性计算公式：

(1) 按照蛋白浓度计算：

活性单位定义：37°C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。

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

(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。

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

$\varepsilon$ ：还原型细胞色素C摩尔消光系数，19100L/mol/cm=0.0191L/ $\mu$ mol/cm； $d$ ：比色皿光径，1cm； $V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，1010 $\mu$ L=0.00101L； $\text{Cpr}$ ：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 $\mu$ 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

**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>