



NADPH-细胞色素 C 还原酶 (NCR) 活性检测试剂盒
NADPH-Cytochrome C Reductase (NCR) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



NADPH-细胞色素 C 还原酶 (NCR) 活性检测试剂盒

NADPH-Cytochrome C Reductase (NCR) Activity Assay Kit

一、产品描述

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，NADPH-细胞色素 C 还原酶作为细胞色素 P450 酶系的重要一员，能够催化氧化型 P450 还原再生。

NADPH-细胞色素 C 还原酶能够催化 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 550 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化速率即可表征 NADPH-细胞色素 C 还原酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
试剂一	粉剂×2 瓶	4°C保存	使用前每瓶加入 120 mL 蒸馏水充分溶解
试剂二	液体 80 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	粉剂×2 支	-20°C避光保存	使用前每支加入 650 μ L 蒸馏水充分溶解 (根据使用量现用现配，配制后 4°C可保存 2 天)
试剂四	粉剂×2 支	-20°C避光保存	使用前每支加入 650 μ L 蒸馏水充分溶解 (根据使用量现用现配，配制后 4°C可保存 2 天)

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、超速离心管、超速离心机、恒温水浴/培养箱。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①称取 500 mg 组织，加入 1 mL 试剂一（4°C预冷），冰浴充分研磨，4°C 10000 g 离心 30 min，取上清液至超速离心管中，4°C 100000 g 离心 60 min，弃上清，留沉淀；

②向步骤①沉淀中加入 1 mL 试剂一，充分震荡重悬沉淀，4°C 100000 g 离心 30 min，弃上清，留沉淀；

③向步骤②沉淀中加入 500 μ L 试剂二，充分震荡重悬沉淀，即为粗酶液，置于冰上待测。

2. 测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 550 nm，蒸馏水调零。

②试验前将试剂二 37℃预热 30 min。

③在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	10	-
蒸馏水	-	10
试剂二	180	180
试剂三	10	10
试剂四	10	10

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 550 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②准确反应 120 s，测定 130 s（总时间）时 550 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。注：空白组只需测定 1-2 次。

3. NADPH-细胞色素 C 还原酶活性计算

3.1 使用 96 孔板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 还原型细胞色素 C 定义为一个酶活力单位。

$$\text{NCR (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{\epsilon \times d_1 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1099.48 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol 还原型细胞色素 C 定义为一个酶活力单位。

$$\text{NCR (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{549.74 \times \Delta A}{W}$$

注释：V 反总：反应体系总体积，0.21 mL；V 样：加入反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 mL；

V 样总：粗酶液总体积，0.5 mL； ϵ ：还原型细胞色素 C 摩尔消光系数， 1.91×10^2 mL/nmol/cm； d_1 ：

96 孔板光径，0.5 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，2 min。

3.2 使用微量比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 还原型细胞色素 C 定义为一个酶活力单位。

$$\text{NCR (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{\epsilon \times d_2 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{549.74 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol 还原型细胞色素 C 定义为一个酶活力单位。

$$\text{NCR (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{\epsilon \times d_2 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{274.87 \times \Delta A}{W}$$

注释： V 反总：反应体系总体积，0.21 mL；V 样：加入反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 mL；
V 样总：粗酶液总体积，0.5 mL； ϵ ：还原型细胞色素 C 摩尔消光系数， 1.91×10^2 mL/nmol/cm； d_2 ：微量玻璃比色皿光径，1 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，2 min。

四、注意事项

①准确在 10 s 和 130 s 处完成吸光值测定，以保证试验结果的准确性和重复性；若使用 96 孔板测定应使用多道移液器且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China
TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

