



细胞色素 b5 含量检测试剂盒

Cytochrome b5 Content Assay Kit

Oxidized Cytochrome b5 $\xrightarrow{\text{Sodium Dithionite}}$ **Reduced Cytochrome b5**

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



细胞色素 b5 含量检测试剂盒

Cytochrome b5 Content 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。细胞色素 b5 是一个具有多种重要生理功能的低自旋金属蛋白，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转化为还原型细胞色素 b5，产物在 424 nm 处具有特征吸收峰，通过测定 424 nm 和 490 nm 处吸光值变化，即可定量检测细胞色素 b5 的含量。

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 100 mL 蒸馏水充分溶解
试剂二	液体 75 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	粉剂×1 瓶	4°C避光保存	使用前加入 20 mL 试剂二充分溶解 (配制后 4°C可保存一周)

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、超速离心机、超速离心管、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 样本处理（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①除去细胞核和线粒体等大分子物质：称取 0.5 g 组织，加入 1 mL 试剂一（4°C预冷），冰浴匀浆，4°C 10000 g 离心 30 min，取上清液至超速离心管中；

②粗制微粒体：4°C 100000 g 离心 60 min，弃上清液，留沉淀；

③除去血红蛋白等杂质：向步骤②离心沉淀中加入 1 mL 试剂一，充分振荡溶解，4°C 100000 g 离心 30 min，弃上清液，留沉淀；

④微粒体的制备：向步骤③离心沉淀中加入 500 μ L 试剂二，充分振荡溶解，即为待测样本，置于冰上待测。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节双波长至 424 nm 和 490 nm，蒸馏水调零。

②试验前将试剂三 25℃预热 30 min。

③在 96 孔板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
待测样本	10	-
蒸馏水	-	10
试剂三	200	200
充分混匀，室温显色 2 min		

吸光值测定：分别测定 424 nm 和 490 nm 处吸光值，424 nm 处吸光值记为 A1 测定和 A1 空白，490 nm 处吸光值记为 A2 测定和 A2 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。注：空白组只需测定 1-2 次。

3.细胞色素 b5 含量计算

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{Cytochrome b5 (nmol/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{\epsilon \times d \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}}} = \frac{245.6 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{Cytochrome b5 (nmol/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{\epsilon \times d \times W \times V_{\text{样}}} = \frac{122.8 \times \Delta A}{W}$$

注释：V 样：反应体系中加入待测样本的体积，0.01 mL；V 反总：反应体系总体积， 2.1×10^{-4} L；V 样总：待测样本总体积，0.5 mL； ϵ ：还原型细胞色素 b5 摩尔消光系数， 171×10^6 L/nmol/cm；d：96 孔板光径，0.5 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样品质量，g。

四、注意事项

①若吸光值大于 1.2 或 ΔA 大于 0.8，建议将待测样本适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；

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.

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

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.

