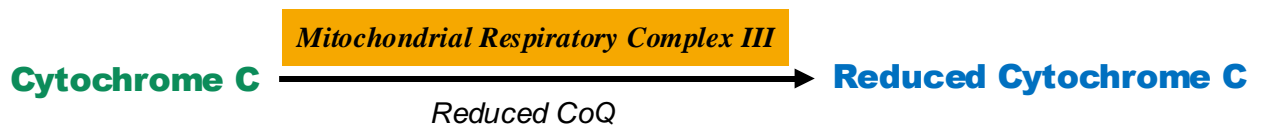




线粒体呼吸链复合体 III 活性检测试剂盒

Mitochondrial Respiratory Complex III Activity Assay Kit



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



线粒体呼吸链复合体 III 活性检测试剂盒

Mitochondrial Respiratory Complex III Activity Assay Kit

一、产品描述

线粒体复合体 III 又称 CoQ-细胞色素 C 还原酶，广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞的线粒体中，作为线粒体呼吸电子传递链主路和支路的共有成分，负责将还原型 CoQ 的氢传递给细胞色素 C，生成还原型细胞色素 C，其活性的测定对呼吸电子传递链（ETC）状态分析具有重要意义。

线粒体呼吸链复合体 III 能够将还原型 CoQ 的氢传递至细胞色素 C，生成还原型细胞色素 C，产物在 550 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值的增加速率即可表征线粒体复合体 III 的活性。

二、产品内容

名称		试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液		液体 20 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	组分 A	粉剂×1 支	-20°C 保存	使用前将组分 A 加入组分 B 中充分溶解 (配制后-20°C 可保存 2 周，避免反复冻融)
	组分 B	液体 24 mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂二		液体 1.5 mL×1 支	4°C 保存	-

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、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、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称取约 0.1 g 组织或收集 500 万细胞，加入 1 mL 提取液，使用匀浆器或研钵冰浴研磨至匀浆，匀浆液 4°C 600 g 离心 10 min，留上清；将离心上清液移至另一离心管中，4°C 12000 g 离心 15 min；

②步骤①离心后上清液即胞浆提取物，可用于测定从线粒体泄漏的复合体 III（此步可选做）。

③步骤①离心后沉淀中加入 200 μL 提取液，冰浴超声破碎（功率 20% 或 200 W，超声 5 s，间隔 10 s，重复 15 次）即为待测样本，用于线粒体复合体 III 活性测定（可用于蛋白含量测定）。

2. 测定步骤

- ① 可见分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 550 nm，蒸馏水调零。
- ② 在 1 mL 玻璃比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)
试剂一	800	800
试剂二	100	-
37°C (哺乳动物) 或 25°C (其它物种)		
准确反应 2 min		
待测样本	100	100
蒸馏水	-	100

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 550 nm 处初始吸光值，记为 A1 测定和 A1 对照；②测定 120 s 时 550 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 对照；③计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{对照}} = A2_{\text{对照}} - A1_{\text{对照}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{对照}}$ 。注：每个样本均需设一个对照组。

3. 线粒体呼吸链复合体 III 活性计算

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

$$\text{复合体 III (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{261.78 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

注释：V 样：反应体系中加入待测样本的体积，0.1 mL；V 反总：反应体系总体积， 1×10^{-3} L； ϵ ：细胞色素 C 摩尔消光系数， 1.91×10^4 L/mol/cm；d：1 mL 玻璃比色皿光径，1 cm；T：反应时间，2 min；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL； 10^9 ：单位换算系数， $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ 。

四、注意事项

- ① 若测定吸光值大于 1.0，建议将待测样本使用提取液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；
- ② 提取液中含有约 1 mg/mL 的蛋白，测定样本蛋白浓度时需减去提取液自身的蛋白含量；
- ③ 准确在规定时间内完成吸光值的测定，以保证结果的准确性和重复性；
- ④ 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；
- ⑤ 推荐使用样本蛋白浓度计算酶活，若使用样本质量计算，则需加测胞浆提取物酶活，上清和沉淀酶活之和方为总酶活。

附：使用样本质量计算的公式

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

$$\text{上清中复合体 III (U/g)} = \frac{\Delta A1 \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\varepsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{261.78 \times \Delta A1}{W}$$

$$\text{沉淀中复合体 III (U/g)} = \frac{\Delta A2 \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{52.36 \times \Delta A2}{W}$$

$$\text{复合体 III (U/g)} = \text{上清中复合体 III} + \text{沉淀中复合体 III} = \frac{261.78 \times \Delta A1}{W} + \frac{52.36 \times \Delta A2}{W}$$

注释： V 反总：反应体系总体积， 1×10^{-3} L；V 样：加入待测样本的体积，0.1 mL；V 提：待测样本总体积，1 mL；V 样总：沉淀重悬体积，0.2 mL； ε ：细胞色素 C 摩尔消光系数， 1.91×10^4 L/mol/cm；d：1 mL 玻璃比色皿光径，1 cm；T：反应时间，2 min；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL； 10^9 ：单位换算系数， $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ ； $\Delta A1$ ：上清测定值； $\Delta A2$ ：沉淀测定值。

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

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liangong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

