

# 线粒体复合体III/CoQ-细胞色素C还原酶试剂盒(微板法)

产品货号：BA3392

产品规格：96样

## 产品简介：

线粒体复合体III (EC 1.10.2.2) 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，是线粒体呼吸电子传递链主路和支路的共有成分，负责把还原型CoQ的氢传递给细胞色素C生成还原型细胞色素C。

还原型细胞色素C在550nm有特征光吸收，线粒体复合体III催化氧化型细胞色素C生成还原型细胞色素C，因此550nm光吸收增加速率能够反映线粒体复合体III酶活性。

## 产品内容：

产品名称	规格	保存条件	注意事项
试剂一	液体100mL×1瓶	2-8°C	
试剂二	液体20mL×1瓶	2-8°C	
试剂三	液体1支	-20°C, 避光	
试剂四	液体2瓶	2-8°C	
试剂五	粉剂2支	-20°C, 避光	1. 用前把一支试剂五全部转移至一瓶试剂四中，混匀溶解后备用； 2. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂六	液体2mL×1支	-20°C, 避光	

## 实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

## 指标测定：

建议先选取1-3个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

### 1. 线粒体制备（提示：整个线粒体的提取过程须保持 4°C 低温环境）：

① 称取约 0.2g 组织或收集 500 万细菌/细胞，加入 1mL 试剂一，用冰浴匀浆器或研钵匀浆，转移至离心管后于 4°C × 700g 离心 10min（若漂浮有脂肪，可用枪头去除）。

② 弃沉淀，上清液移至另一离心管中，4°C × 12000g 离心 10min。沉淀即为提取的线粒体，用作第④步操作。

③（选做）上步得到的上清液即为胞浆提取物，可作为样本用于测定从线粒体泄漏的线粒体呼吸链复合体 III，用于判断线粒体提取效果。

④ 在沉淀（线粒体）中加入 200 μL 试剂二和 2 μL 试剂三，超声波破碎（冰浴，功率 20% 或 200W，超声 3s，间隔 10 秒，重复 30 次），液体置于冰上用于线粒体复合体 III 酶活性测定。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例进行提取，或按照细菌/细胞数量（10<sup>4</sup>）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

### 2. 检测步骤：

① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 550nm。



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

QQ：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

② 若待测上清液比较浑浊（蛋白浓度比较高），可先对样本进行梯度稀释或按照下方加样表梯度减少样本加样量（试剂六相应增加）进行预测定实验。

③ 将试剂五和六置于 37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）于恒温振荡培养箱或水浴锅中孵育 15min；在 96 孔板中依次加入：

试剂组分 (μL)	测定管
样本	20
试剂五	170
试剂六	10
混匀，于 550nm 处读取 A1，置于 37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种），5min 后读取 A2，ΔA=A2-A1。	

**【注】** 1.若ΔA 的值在零附近徘徊，可以增加样本加样体积 V1（如 40μL，试剂五相应减少），或延长反应时间 T（如增至 10min 或更长），则改变后的 V1 和 T 需代入计算公式重新计算。

### 结果计算：

#### 1. 按样本蛋白浓度计算：

定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1nmol 还原型细胞色素 C 定义为一个酶活力单位。

复合体 III 活力(nmol/min/mg prot)=[ΔA÷(ε×d)×V2×10<sup>9</sup>]÷(V1×Cpr)÷T=183.15×ΔA÷Cpr

#### 2. 按样本鲜重计算：

定义：每克组织每分钟催化产生 1nmol 还原型细胞色素 C 定义为一个酶活力单位。

复合体 III 活力(nmol/min/g 鲜重)=[ΔA÷(ε×d)×V2×10<sup>9</sup>]÷(W×V1÷V)÷T=183.15×ΔA÷W

#### 3. 按细菌/细胞密度计算：

定义：每 1 万个细菌/细胞每分钟催化产生 1nmol 还原型细胞色素 C 定义为一个酶活单位。

复合体 III 活力(nmol/min/10<sup>4</sup> cell)=[ΔA÷(ε×d)×V2×10<sup>9</sup>]÷(500×V1÷V)÷T=0.366×ΔA

ε--还原型细胞色素 C 摩尔消光系数，21.84×10<sup>3</sup> L/mol/cm； d--96 孔板光径，0.5cm；

V---加入提取液体积，0.202 mL； V1---加入样本体积，0.02mL； V2---反应体系总体积，2×10<sup>-4</sup>L；

T---反应时间，5min； W---样本质量，g； 500--细胞或细菌总数，500 万；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL； 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。



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>