

## 线粒体呼吸链复合物 IV 活性测试盒

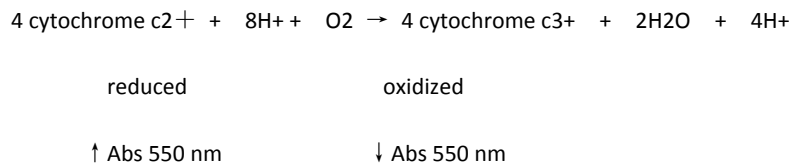
20 管/20 样

### 一、反应原理：

线粒体呼吸链复合物 IV（Mitochondria Complex IV），又称为细胞色素 C 氧化还原酶（cytochrome c oxidoreductase）或细胞色素 C 氧化酶（Cytochrome c oxidase），存在于真核生物的细胞线粒体上，主要通过氧化磷酸化为细胞提供能量。呼吸链复合物 IV 是由 13 种不同的亚体构成的复合物，其中含有 2 个血红素（heme）基团（a 和 a<sub>3</sub>）和 2 个铜原子，作为辅基（prosthetic groups）。

呼吸链复合物 IV 的遗传变异导致氧化磷酸化类疾病，包括阿茨罕默综合症和肿瘤等。基于底物还原型细胞色素 C（reduced cytochrome c），受到呼吸链复合物 IV 的催化，转化为氧化型细胞色素 C（oxidized cytochrome c），在分光光度仪下，出现吸光值的变化（550nm 波长），由此定量测定呼吸链复合物 IV 的活性。呼吸链复合物 IV 反应系统为：

### Complex IV



### 二、试剂组成：

缓冲液（Reagent A）	20 毫升
反应液（Reagent B）	2 毫升
稀释液（Reagent C）	1 毫升
稳定液 A（Reagent D1）	1 管

稳定液 B (Reagent D2)	250 微升
产品说明书	1 份

### 三、保存方式

缓冲液 (Reagent A) 和稀释液 (Reagent C) 保存在 4℃ 冰箱里, 其余的保存在 -20℃ 冰箱里;

反应液 (Reagent B) 避免光照; 有效保证 6 月

### 四、用户自备

比色皿: 用于比色分析的容双波长分光光度仪; 用于比色分析

培养箱: 用于孵育反应物 1.5 毫升离心管: 用于反应液配制的容器

培养箱: 用于孵育反应物

1.5 毫升离心管: 用于反应液配制的容器

### 五、实验步骤

#### (一)、背景对照测定

- 1、移取 800 微升缓冲液 (Reagent A) 到新的比色皿
- 2、加入 100 微升稀释液 (Reagent C)
- 3、上下颠倒数次, 混匀
- 4、室温静置 3 分钟
- 5、加入 100 微升含有反应液 (Reagent B) 和稳定液 (Reagent D) 的工作液
- 6、上下颠倒数次, 混匀 (限定在 3 秒之内)

7、即刻放进分光光度仪检测，此为背景空对照（0 秒读数-60 秒读数），正常读数差值为 0.001 至 0.005

## （二）、样品活性测定

- 1、移取 800 微升缓冲液（Reagent A）到新的比色皿
- 2、加入 100 微升待测样品（注意：建议总量 2 微克线粒体蛋白）
- 3、上下倾倒数次，混匀
- 4、室温静置 3 分钟
- 5、加入 100 微升含有反应液（Reagent B）和稳定液（Reagent D）的工作液
- 6、上下倾倒数次，混匀（限定在 3 秒之内）
- 7、即刻放进分光光度仪检测，此为背景空对照：（0 秒读数-60 秒读数），正常读数差值为正值

## 六、样品活性计算

$$\frac{(\text{样本读数} - \text{背景读数}) \times \text{体系容量} (1\text{ml}) \times \text{样本稀释倍数}}{(\text{毫摩尔吸光系数}) \times \text{反应时间} (1 \text{ 或者 } 5 \text{ 分钟})} \div \text{样本蛋白浓度} \times \text{样本容量} (0.1\text{ml}) \times 21.84$$

单位： $\mu\text{mol}$  细胞色素 C/min/mgprot

（蛋白浓度可通过总蛋白定量考马斯亮蓝法试剂盒测定）

