

植物HMG-CoA还原酶(HMGR)活性检测试剂盒 (紫外分光光度法)

产品货号：BA3496

产品规格：50T/48S

产品简介：

3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶A还原酶(3-Hydroxy-3-Methyl Glutaryl Coenzyme A Reductase, HMGR; EC1.1.1.34)，是由887个氨基酸残基组成的糖蛋白，存在于肝脏、肠道及其他组织的内质网。它是肝细胞合成胆固醇过程中的限速酶，催化生成甲羟戊酸，抑制HMG-CoA还原酶能阻碍胆固醇合成。

HMG-CoA在HMGR酶的催化作用下消耗2份子NADPH生成3-甲基-3, 5-二羟戊酸(甲羟戊酸)和2份子NADP⁺，通过测定340nm处吸光值的变化，从而测定HMGR酶活性。



注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体60mL×1瓶	2-8°C
提取液二	液体0.6mL×1支	-20°C
试剂一	液体35mL×1瓶	2-8°C
试剂二	液体6mL×1瓶	2-8°C
试剂三	粉剂×1瓶	-20°C

溶液的配制：

- 提取液二：-20°C 保存会析出，常温震荡溶解后使用，有挥发性，使用后及时封口，避免挥发。
- 提取液：临用前根据样本量按照提取液一：提取液二=990μL:10μL(共 1mL, 1T)的比例配制成提取液后使用，现配现用，禁止一次性全部混合。
- 试剂三：试剂置于棕色试剂瓶内玻璃瓶中，临用前加入 7mL 蒸馏水充分溶解，未用完的试剂-20°C 分装保存 4 周，避免反复冻融。
- 工作液的配制：临用前根据样本量按照试剂一:试剂二工作液:试剂三=550μL:100L:100μL(共 750μL, 约 1T)配制成工作液使用，现配现用。

所需的仪器和用品：

紫外分光光度计、水浴锅/金属浴、台式离心机、可调式移液器、1mL石英比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）：

- 植物组织样本：按照组织质量(g): 提液体积(mL)为 1:5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液)，进行冰浴匀浆。4°C, 12000g 离心 10min，取上清液置于冰上待测。

二、测定步骤



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

1. 紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。
2. 操作表：(在 1mL 石英比色皿中加入以下试剂)

试剂名称 (μL)	测定管	空白管
样本	250	-
蒸馏水	-	250
工作液	750	750

充分混匀，立即测定340nm下10s时的初始吸光值A1，之后迅速将比色皿连同反应液一起置于37°C水浴中准确反应20min，立即取出擦干340nm下测定20min10s时的吸光值A2。分别记为A1测定、A1空白、A2测定、A2空白，计算 ΔA 测定= A_1 测定- A_2 测定， ΔA 空白= A_1 空白- A_2 空白， ΔA = A_1 测定- A_2 空白，(空白管只需做1-2次)。

三、HMGR活性计算

(1) 按照蛋白浓度计算

酶活定义：在37°C条件下，每毫克蛋白在反应体系中每分钟消耗1nmol NADPH定义为一个酶活性单位。

$$\text{HMGR 活性 (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T \times F = 32.154 \times \Delta A \div C_{\text{pr}} \times F$$

(2) 按照样本质量计算

酶活定义：在37°C条件下，每克组织在反应体系中每分钟消耗1nmol NADPH定义为一个酶活性单位。

$$\text{HMGR活性(U/g质量)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提}}) \div T \times F = 32.154 \times \Delta A \div W \times F$$

V_{反总}: 反应体系总体积, $1 \times 10^{-3}\text{L}$; ε : NADPH摩尔吸光系数, $6.22 \times 10^3\text{L/mol/cm}$; V_{样本}: 加入样本体积, 0.25mL; d: 微量石英比色皿光径, 1cm; V_{提取}: 加入提取液体积, 1mL; C_{pr}: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样木质量, g; 10^9 : 单位换算系数, 1mol=10⁹nmol; T: 反应时间, 20min; F: 稀释倍数。

注意事项:

1. 若样本 ΔA 过低，建议增大样本量，同时减小试剂一体积后测定，注意同步修改计算公式。
2. 若反应液浑浊，建议用蒸馏水稀释样本后进行测定。

实验实例:

1. 取 0.1027g 番茄，加 1mL 提取液进行样本处理，离心取上清用蒸馏水稀释 2 倍后，按测定步骤操作，用 1mL 石英比色皿测得计算 ΔA 测定= A_1 测定- A_2 测定= $1.189 - 1.060 = 0.127$ ， ΔA 空白= A_1 空白- A_2 空白= $0.759 - 0.708 = 0.051$ ， ΔA = ΔA 测定- ΔA 空白= $0.127 - 0.051 = 0.078$ ，按照样本质量计算：
 $\text{HMGR活性(U/g 质量)} = 32.154 \times \Delta A \div W \times F = 24.42\text{U/g 质量}。$
2. 取 0.1007g 绿萝叶片，加 1mL 提取液进行样本处理，离心取上清用蒸馏水稀释 4 倍后，按测定步骤操作，用 1mL 石英比色皿测得计算 ΔA 测定= A_1 测定- A_2 测定= $1.375 - 1.289 = 0.086$ ， ΔA 空白= A_1 空白- A_2 空白= $0.759 - 0.708 = 0.051$ ， ΔA = ΔA 测定- ΔA 空白= $0.086 - 0.051 = 0.035$ ，按照样本质量计算：
 $\text{HMGR 活性(U/g 质量)} = 32.154 \times \Delta A \div W \times F = 44.70\text{ U/g 质量}。$



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>