

植物HMG-CoA还原酶(HMGR)活性检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA3495

产品规格: 100T/96S

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110mL×1瓶	2-8°C
提取液二	液体0.6mL×2支	-20°C
试剂一	液体13mL×1瓶	2-8°C
试剂二	液体2.2mL×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)的比例配制成为提取液后使用, 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 2.5mL 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: 试剂三=110μL:20L:20μL(共 150μL, 约 1T)配制成为工作液使用, 现配现用。

所需的仪器和用品:

紫外分光光度计/酶标仪、水浴锅/金属浴、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔UV板、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): 提取液体积(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

- 紫外分光光度计/酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 340nm, 紫外分光光度计用蒸馏水调零。
- 临用前将工作液常温平衡 5min。
- 操作表: (在微量石英比色皿/96 孔 UV 板中加入以下试剂)



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

试剂名称 (μL)	测定管	空白管
样本	50	-
蒸馏水	-	50
工作液	150	150

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（酶标仪有控温功能的可以将温度设置为37°C），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=A1测定-A2测定， ΔA 空白=A1空白-A2空白， ΔA =AA测定-AA空白，(空白管只需做1-2次)。

三、HMGR活性计算

A. 按微量玻璃比色皿计算

(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， 2×10^{-4} L； ε ：NADPH摩尔吸光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；V_{样本}：加入样本体积，0.05mL；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：样本质量，g； 10^9 ：单位换算系数，1nmol=10⁹nmol；T：反应时间，20min；F：稀释倍数。

B. 按96孔板计算

(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。

$$\text{HMGR 活性 (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T \times F = 53.59 \times \Delta A \div C_{\text{pr}} \times F$$

(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。

$$\text{HMGR 活性 (U/g 质量)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提}}) \div T \times F = 53.59 \times \Delta A \div W \times F$$

V_{反总}：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ε ：NADPH摩尔吸光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；V_{样本}：加入样本体积，0.05mL；d：微量石英比色皿光径，0.6cm；V_{提取}：加入提取液体积，1mL；C_{pr}：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g； 10^9 ：单位换算系数，1nmol=10⁹nmol；T：反应时间，20min；F：稀释倍数。

注意事项：

- 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。
- 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，离心取上清后按测定步骤操作，用96孔UV板测得计算 ΔA 测定=A1测定-A2测定=1.074-0.964=0.110， ΔA 空白=A1空白-A2空白=0.791-0.754=0.037， ΔA = ΔA 测定- ΔA 空白=0.110-0.037=0.073，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96孔UV板测得计算 ΔA 测定=A1测定-A2测定=1.012-0.947=0.065， ΔA 空白=A1空白-A2空白=0.791-0.754=0.037， ΔA = ΔA 测定- ΔA 空白=0.065-0.037=0.028，按照样本质量计算：

$$\text{HMGR活性(U/g 质量)} = 53.59 \times \Delta A \div W \times F = 59.60 \text{ U/g 质量。}$$



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