

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-D011

产品规格: 48T/96T

检测仪器: 酶标仪(330-350 nm)

**Elabscience®3-羟基-3-甲基戊二酰-辅酶 A 还原酶
(HMGR)抑制剂筛选试剂盒**

**3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA Reductase
(HMGR) Inhibitor Screening Kit**

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测 3-羟基-3-甲基-戊二酰辅酶 A 还原酶(HMGR)抑制剂的抑制效果。

检测原理

3-羟基-3-甲基-戊二酰辅酶 A 还原酶(羟甲戊二酰辅酶 A 还原酶, HMGR)是甲羟戊酸途径的速率控制酶, 甲羟戊酸途径是乙酰-CoA 产生胆固醇的代谢途径, 此检测试剂盒可筛选 HMGR 的抑制剂, 是胆固醇及其他相关代谢途径基础研究的重要工具。

本试剂盒的检测原理: HMGR 催化底物反应消耗 NADPH, 在 340 nm 处吸光度下降, 加入抑制剂后会抑制 HMGR 酶活, 导致吸光度下降的速率降低, 测定吸光度变化值可计算出抑制率。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	20 mL×1 瓶	40 mL×1 瓶	-20°C避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	0.12 mL×1 支	0.24 mL×1 支	-20°C避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	10 mM 洛伐他汀 (10 mM Lovastatin)	0.05 mL×1 支	0.05 mL×1 支	-20°C避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	底物 (Substrate)	0.4 mL×1 支	0.8 mL×1 支	-20°C避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	促进剂 (Accelerant)	粉剂×2 支	粉剂×4 支	-20°C避光 保存 6 个月
	96 孔紫外酶标板	96 孔×1 块		无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明: 试剂严格按上表中的保存条件保存, 不同试剂盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂, 使用前请先离心, 以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(330-350 nm，最佳检测波长 340 nm)，恒温箱(25°C)

试剂：DMSO(二甲基亚砷)

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25°C。

② 试剂二工作液的配制：

将试剂二：试剂一按体积比=1：9配制，现配现用，置于冰上避光待用，当天使用有效。

③ 洛伐他汀配制及使用：

使用试剂一稀释到所需浓度。此试剂为HMGR抑制剂，作为阳性对照，测定抑制率可作为参考，在本试剂盒中的IC₅₀约为10 μmol/L，实测数据会有差异。

④ 试剂四工作液的配制：

将试剂四：试剂一按体积比=1：2配制，现配现用，置于冰上避光待用，当天使用有效。

⑤ 试剂五工作液的配制：

取一支试剂五加0.72 mL双蒸水溶解完全，置于冰上避光待用，未用完的溶液，-20°C下避光可保存3天，尽量避免反复冻融。

⑥ 反应工作液的配制：

将试剂一：试剂四工作液：试剂五工作液按体积比=7：1：1配制，配制后的工作液需室温下避光放置至少5 min后使用，现配现用，置于冰上避光待用，当天使用有效。

样本准备

建议使用试剂一稀释样本，若样本水溶性较差，可使用DMSO配制成高浓度溶液后再使用试剂一稀释，反应体系中DMSO含量应小于5%。

操作步骤

① 空白孔：加入 40 μL 试剂一。

总酶活孔：加入 20 μL 试剂一和 20 μL 试剂二工作液。

阳性对照孔：加入 20 μL 试剂二工作液和 20 μL 洛伐他汀。

测定孔：加入 20 μL 试剂二工作液和 20 μL 样本。

② 向步骤①的各孔中加入 180 μL 的反应工作液。

③ 振板 5 s，酶标仪 340 nm 波长下立即检测各孔 OD 值 A_1 ，25 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 20 min 后检测各孔 OD 值 A_2 。

(阳性对照孔测定的为 HMGR 特异性抑制剂洛伐他汀的抑制率，仅可作为参考，实际测定过程中可不做此孔，在本试剂盒中的 IC_{50} 约在 10 μM ，实测数据会有差异)。

操作表

	空白孔	总酶活孔	阳性对照孔	测定孔
试剂一(μL)	40	20	--	--
试剂二工作液(μL)	--	20	20	20
洛伐他汀(μL)			20	
样本(μL)	--	--	--	20
反应工作液(μL)	180	180	180	180
振板 5 s，酶标仪 340 nm 波长下立即检测各孔 OD 值 A_1 ，25 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 20 min 后检测各孔 OD 值 A_2 。				

结果计算

HMGR 抑制率计算:

$$\text{HMGR 抑制率}(\%) = \frac{\Delta A_1 - \Delta A_2}{\Delta A_1} \times 100\%$$

注解:

$$\Delta A_1 = \Delta A_{\text{总}} - \Delta A_{\text{空白}}$$

$$\Delta A_2 = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$$

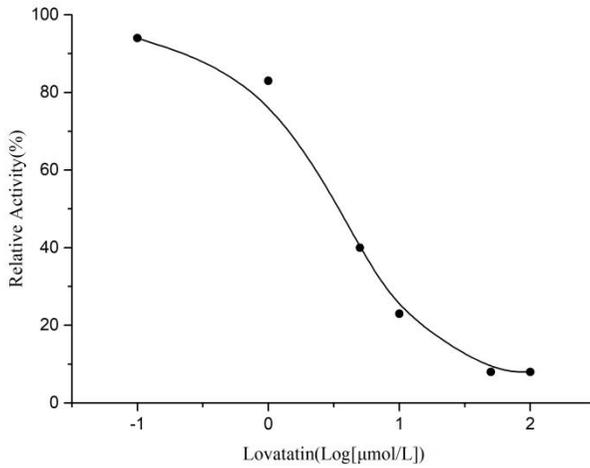
$\Delta A = A_1 - A_2$ (A_1 为初始测定值, A_2 为孵育 20 min 后测定值)

附录1 关键数据

1. 技术参数

批内差	1.8-3.3%	批间差	2.2-10.0%
-----	----------	-----	-----------

2. HMGR抑制剂筛选试剂盒检测抑制剂洛伐他汀的效果图



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

