

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: GBQ220

产品规格: 48T(46 samples)/96T(94 samples)

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)比色法测试盒**

### **3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A Reductase (HMGR) Activity Colorimetric Assay 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](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址: [www.elabscience.cn](http://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动物组织中的 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 (HMGR)的活力。

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,HMGR 检测试剂盒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是:HMGR 催化底物反应消耗 NADPH,引起 340 nm 处吸光度下降，通过测定其下降速率可计算出 HMGR 的活力。

提供试剂和物品

| 编号                 | 名称                               | 规格 1<br>(Size 1)(48 T) | 规格 2<br>(Size 2)(96 T) | 保存方式<br>(Storage)  |
|--------------------|----------------------------------|------------------------|------------------------|--------------------|
| 试剂一<br>(Reagent 1) | 提取液 A<br>(Extraction Solution A) | 60 mL×1 瓶              | 60 mL×2 瓶              | -20℃ 避光<br>保存 6 个月 |
| 试剂二<br>(Reagent 2) | 提取液 B<br>(Extraction Solution B) | 0.6 mL×1 支             | 1.2 mL×1 支             | -20℃ 避光<br>保存 6 个月 |
| 试剂三<br>(Reagent 3) | 缓冲液<br>(Buffer Solution)         | 10 mL×1 瓶              | 20 mL×1 瓶              | -20℃ 避光<br>保存 6 个月 |
| 试剂四<br>(Reagent 4) | 促进剂<br>(Accelerant)              | 粉剂×2 支                 | 粉剂×4 支                 | -20℃ 避光<br>保存 6 个月 |
| 试剂五<br>(Reagent 5) | 底物<br>(Substrate)                | 0.12 mL×1 支            | 0.24 mL×1 支            | -20℃ 避光<br>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，不同测试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)

## 试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25°C。

② 提取工作液的配制：

将试剂一：试剂二按体积比 = 99：1配制，现配现用，置于冰上避光待用，当天使用有效。

③ 试剂四工作液的配制：

试剂四加入0.72 mL的双蒸水溶解完全后使用，可分装-20°C下避光保存3天。

④ 试剂五工作液的配制：

将试剂五：试剂三按体积比 = 1：9配制，现配现用，置于冰上避光待用，当天使用有效。

⑤ 反应工作液的配制：

将试剂三：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25°C下放置至少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

① 样本处理

组织样本：按照组织样本质量(g)：提取工作液体积(mL)= 1:9的比例匀浆 (如0.1 g组织样本，加入0.9 mL提取工作液)。4℃，10000 × g，离心10 min，取上清置于冰盒上待测，制备好的组织匀浆液在4 h内使用为宜。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.67-24.65 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

| 样本       | 稀释倍数 | 样本          | 稀释倍数 |
|----------|------|-------------|------|
| 10%小鼠肝组织 | 不稀释  | 10%小鼠肾组织    | 不稀释  |
| 10%小鼠脑组织 | 不稀释  | 10%小鼠心组织    | 不稀释  |
| 10%小鼠肺组织 | 不稀释  | 10%小鼠小腿肌肉组织 | 不稀释  |

注：稀释液为提取工作液。

操作步骤

- ① 空白孔：取 20  $\mu\text{L}$  试剂三加入相应的酶标孔中。  
测定孔：取 20  $\mu\text{L}$  待测样本加入相应的酶标孔中。
- ② 向步骤①中的各孔加入 180  $\mu\text{L}$  反应工作液。
- ③ 振板 5 s，酶标仪 340 nm 波长下检测各孔 OD 值  $A_1$ ，25 $^{\circ}\text{C}$  孵育 20 min 后检测各孔 OD 值  $A_2$ 。

操作表

|                                                                                          | 空白孔 | 测定孔 |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 试剂三( $\mu\text{L}$ )                                                                     | 20  | --  |
| 待测样本( $\mu\text{L}$ )                                                                    | --  | 20  |
| 反应工作液( $\mu\text{L}$ )                                                                   | 180 | 180 |
| 振板 5 s，酶标仪 340 nm 波长下检测各孔 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

组织中 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(HMGR)活力计算:

定义: 25°C 条件下, 每千克组织样本每分钟消耗 1  $\mu\text{mol}$  NADPH 所需的酶量为 1 个酶活力单位。

$$\text{HMGR 活力 (U/kg wet weight)} = \frac{\Delta A_{340}}{t \times 0.6 \times \varepsilon} \times \frac{V_{\text{总}}}{V_{\text{样}}} \div m \times V \times f$$

注解:

$\Delta A_{340}$ : 样本的绝对 OD 值( $\Delta A = A_1 - A_2$ ,  $\Delta A_{340} = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ )

t: 反应时间, 20min

0.6: 酶标板孔的光径, cm

$\varepsilon$ : NADPH 在 340 nm 处的微摩尔吸光系数,  $6.22 \times 10^{-3} \text{ L}/(\mu\text{mol} \cdot \text{cm})$

$V_{\text{总}}$ : 反应总体积, 0.2 mL

$V_{\text{样}}$ : 样本体积, 0.02 mL

m: 样本质量, kg

V: 加入提取液的体积, L

f: 样本加入检测体系前的稀倍数

## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

|       |                |     |           |
|-------|----------------|-----|-----------|
| 检测范围  | 0.67-24.65 U/L | 批间差 | 4.2-10.0% |
| 灵敏度   | 0.67 U/L       | 批内差 | 4.2-6.0%  |
| 稀释回收率 | 95-100%        |     |           |

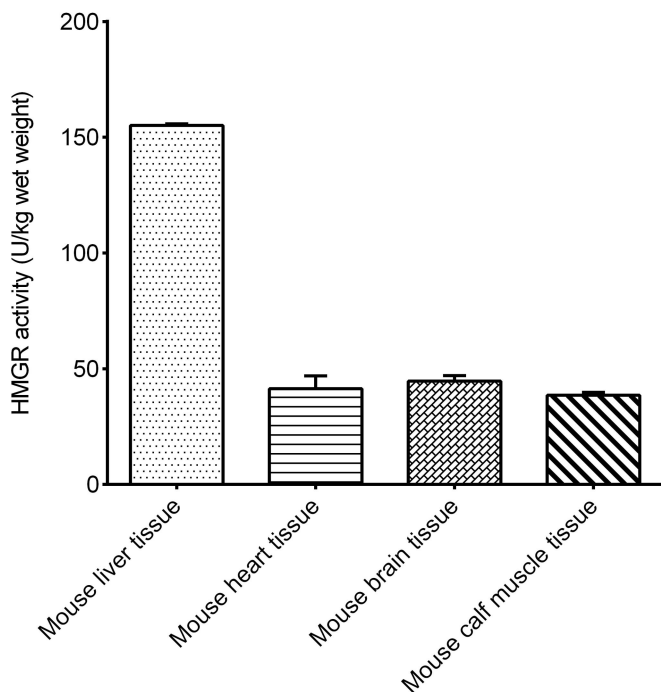
## 附录2 实例分析

例如小鼠肝组织(数据仅供参考):

取10%小鼠肝组织匀浆20  $\mu\text{L}$ 加入到酶标板孔中, 按操作表操作, 结果如下: 测定孔 $A_1$ 值为1.451,  $A_2$ 值为1.292,  $\Delta A_{\text{测定}} = 1.451 - 1.292 = 0.159$ ; 空白孔 $A_1$ 值为0.825,  $A_2$ 值为0.803,  $\Delta A_{\text{空白}} = 0.825 - 0.803 = 0.022$ ;  $\Delta A_{340} = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}} = 0.159 - 0.022 = 0.137$ , 计算结果为:

$$\begin{aligned} \text{HMGR活力} &= 0.137 \div 20 \div 0.6 \div 6.22 \times 1000 \times 0.2 \div 0.02 \div 0.1 \times 1000 \times 0.9 \times 0.001 \\ (\text{U/kg wet weight}) &= 165.19 \text{ U/kg wet weight} \end{aligned}$$

按说明书操作, 测定小鼠肝组织(10%组织匀浆, 加样量20  $\mu\text{L}$ )、小鼠心组织(10%组织匀浆, 加样量20  $\mu\text{L}$ )、小鼠脑组织(10%组织匀浆, 加样量20  $\mu\text{L}$ )、小鼠小腿肌肉组织(10%组织匀浆, 加样量20  $\mu\text{L}$ )中的HMGR活力(如下图):



## 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。





