

(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-K795-M

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

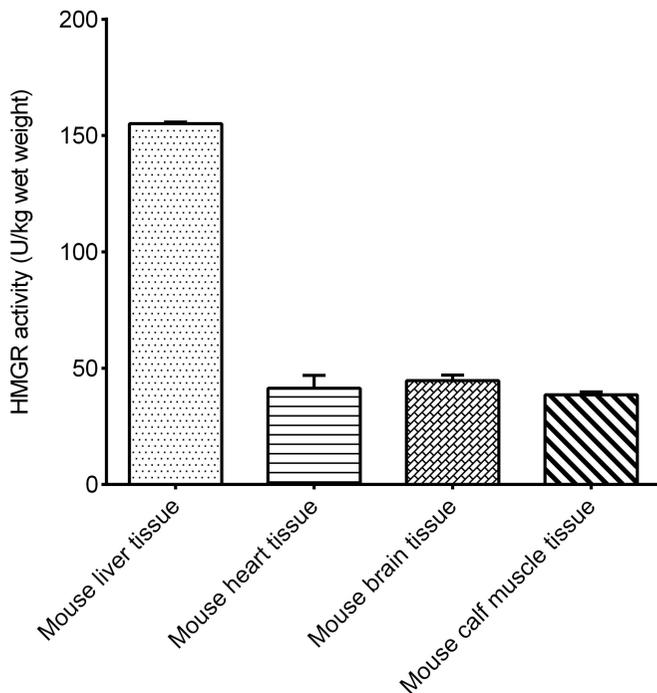
## 附录2 实例分析

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。





