



## 羟甲基戊二酰辅酶 A 合成酶活性检测试剂盒

### HMGCS Assay Kit

可见分光光度法

产品编号: AK411V

产品规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES411	60mL×1 瓶	4℃保存;
AK411-A	粉剂×1 瓶	-20℃避光保存; 临用前加入7mL 蒸馏水充分溶解待用; 剩余试剂分装后-20℃保存, 禁止反复冻融;
AK411-B	粉剂×1 瓶	-20℃避光保存; 临用前加入7mL 蒸馏水充分溶解待用; 剩余试剂分装后-20℃保存, 禁止反复冻融;
AK411-C	15mL×1 瓶	4℃避光保存。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

**意义:** 羟甲基戊二酰辅酶A 合成酶 (HMGCS) 是甲羟戊酸代谢途径中的关键酶, 催化乙酰CoA 与乙酰乙酰CoA生成羟甲基戊二酰CoA。

**原理:** HMGCS 催化乙酰 CoA 与乙酰乙酰 CoA 生成羟甲基戊二酰 CoA, 同时产生 CoASH, 使 DTNB 转化为黄色的 TNB, 在 412nm 下有特征吸光值。

自备用品:

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1 mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

样本的前处理:

组织、细菌或细胞中胞浆蛋白与线粒体蛋白的分离:

1. 细菌、细胞或组织样品的制备:

细菌或培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 (10<sup>4</sup> 个) : ES411 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL ES411), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

组织: 按照组织质量 (g) : ES411 体积(mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL ES411), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

2. 血清 (浆) 样品: 直接检测。

测定步骤:

1. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 412nm, 蒸馏水调零。

2. 样本测定 (在 1 mL 玻璃比色皿中加入) :

试剂名称	测定管 (μL)
AK411-A	125
AK411-B	125
AK411-C	250
混匀	
样本上清	500

迅速混匀后立即在412nm波长下记录初始吸光值A1和4min后的吸光值A2，计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

#### HMGCS 酶活性计算：

##### 1. 血清（浆）活性

单位定义：每 mL 血清（浆）每分钟催化产生 1nmol TNB 为一个酶活力单位。

$$HMGCS (U /mL) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 36.76 \times \Delta A$$

##### 2. 组织、细菌或细胞 HMGCS 活性

###### （1）按样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1nmol TNB 为一个酶活力单位。

$$HMGCS (U/mg prot) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 36.76 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

###### （2）按样本鲜重计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化产生 1nmol TNB 为一个酶活力单位。

$$HMGCS (U/g 鲜重) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 36.76 \times \Delta A \div W$$

###### （3）按细菌或细胞密度计算

单位定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 1nmol TNB 为一个酶活力单位。

$$HMGCS (U/10^4 cel) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.074 \times \Delta A$$

注：V 反总：反应体系总体积， $1 \times 10^{-3}$  L； $\varepsilon$ ：TNB 摩尔消光系数， $1.36 \times 10^4$  L / mol / cm；d：比色皿光径，1cm；

V 样：加入样本体积，0.5 mL；V 样总：加入提取液 (ES411) 体积，1mL；T：反应时间，4 min；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细胞或细菌总数，500 万。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))