



## 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（ $10^4$  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：

- 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。
- 样本测定（在 1 mL 玻璃比色皿中加入）：

试剂名称	测定管（ $\mu$ L）
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。

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

#### 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。

$$\text{HMGCS (nmol/min /mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 36.76 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

##### (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。

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

##### (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。

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

**注：** V 反总：反应体系总体积， $1 \times 10^{-3}$  L； $\epsilon$ ：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：样本蛋白质浓度，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](#))