

查尔酮异构酶(chalcone isomerase,CHI)试剂盒说明书

(货号: BP10459F 分光法 48 样 有效期: 3 个月)

一、指标介绍:

查尔酮异构酶(CHI, EC 5.5.1.6)是第一个被认识的黄酮类化合物合成相关酶,也是黄酮代谢途径中的关键酶之一。广泛存在于多种植物中,在植物的抗菌机制、抗胁迫、细胞的发育和分化、色素的积累和外源基因的表达等方面起着重要的作用。

查尔酮异构酶(CHI)可使查尔酮形成二氢黄酮,通过检测查尔酮的初始降解速率进而得出查尔酮异构酶的酶活性大小。

二、试剂盒组分与配制:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 32mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体 4 支	4℃避光保存	每支: 1. 开盖前注意使粉体落入底部(可手动甩一甩); 2. 加入 0.6mL 乙醇充分溶解,4℃保存。

三、实验器材:

研钵(匀浆机)、冰盒(制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅(烘箱、培养箱、金属浴)、1ml 石英比色皿、离心管、分光光度计、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)。

四、指标测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本(例如不同类型或分组)进行预实验,熟悉操作流程,根据预实验结果确定或调整样本浓度,以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1、样本提取:

称取约 0.1g 组织,加入 1mL 提取液,进行冰浴匀浆。12000rpm 4℃离心 15min,取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例提取

2、检测步骤:

- ① 分光光度计预热 30min 以上,温度设定 30℃,调节波长至 380nm,蒸馏水调零。
- ② 试剂放在 30℃水浴 5min;
- ③ 按照下表在 1mL 石英比色皿(光径 1cm)中依次加入试剂:

试剂组分 (μL)	测定管
样本	160
试剂一	600
试剂二	40
混匀,30℃条件下,立即于 380nm 处读取吸光值 A1,10min 后读取 A2。 $\Delta A = A1 - A2$ 。	

【注】:若 ΔA 在零附近徘徊,可延长反应时间 T(如:30min 或更长),或加大样本量 V1(如增至 240μL,则试剂一相应减少),重新调整后的反应时间 T 和 V1 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算：

1、按样本蛋白浓度计算：

酶活单位定义：每毫克组织蛋白每分钟吸光值变化 0.005 为一个酶活单位（U）。

$$\text{CHI(U/min/mg prot)}=(\Delta A \div 0.005) \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T=125 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2、按样本鲜重计算：

酶活单位定义：每克样本每分钟吸光值变化 0.01 为一个酶活单位（U）。

$$\text{CHI(U/min/g 鲜重)}=(\Delta A \div 0.005) \div (W \times V1 \div V) \div T=125 \times \Delta A \div W$$

V---加入提取液体积，1 mL；

V1---加入样本体积，0.16 mL；

T---反应时间，10 min；

W---样本质量，g。

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量测定试剂盒；