查尔酮异构酶(chalcone isomerase,CHI)试剂盒说明书

（微板法 96 样）

一、产品简介：

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：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体×3 支	4℃保存	临用前离心或甩几下使试剂落入底部，每支再分别加 0.5mL 乙醇充分溶解，4℃保存。

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

四、查尔酮异构酶（CHI）活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

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、上机检测：

① 酶标仪预热 30min 以上，温度设定 30℃，调节波长至 380nm。

② 试剂放在 30℃水浴 5min；

③ 按照下表在 96 孔板中依次加入试剂：

试剂名称（μL）	测定管
样本	40
试剂一	150
试剂二	10
混匀，30℃条件下，立即于 380nm 处读取吸光值 A1，10min 后读取 A2。△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 80μL，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 0.01 为一个酶活单位（U）。

CHI(U/min/mg prot)=(ΔA÷0.01)÷(V1×Cpr)÷T=250×ΔA÷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）。

CHI(U/min/g 鲜重)=(ΔA÷0.01)÷(W×V1÷V)÷T=250×ΔA÷W

V---加入提取液体积，1 mL；　　V1---加入样本体积，0.04 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；