

# 异柠檬酸裂解酶（ICL）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1216

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：组织、细菌、真菌

## 产品简介

异柠檬酸裂解酶（Isocitrate Lyase, ICL; EC4.1.3.1）主要存在于植物和微生物中，油料作物种子在萌发过程中，通过乙醛酸循环及其他过程将脂肪转变成碳水化合物。在乙醛酸循环这一独特的代谢过程中，异柠檬酸裂解酶是关键酶之一。在反应系统中，异柠檬酸裂解酶催化异柠檬酸的分解，形成一分子乙醛酸和一分子琥珀酸。本试剂盒提供了一种简单、方便、快速的 ICL 活性检测方法，其原理是：ICL 催化异柠檬酸降解为乙醛酸和琥珀酸，乙醛酸和 NADH 在 LDH 的作用下生成乙醇和 NAD，NADH 在 340nm 下有特征吸收峰，而 NAD 没有，在 340nm 下测定 NADH 的减小速率可间接反应 ICL 活性。

## 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃ 保存
试剂一	7.5mL	15mL	4℃ 保存
试剂二	粉剂×1 支	粉剂×1 支	4℃ 保存
试剂三	0.25mL	0.5mL	-20℃ 保存
试剂四	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	-20℃ 保存

## 自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测 340nm 处的吸光度）  
 96 孔 UV 微孔板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头  
 水浴锅、制冰机，低温离心机  
 去离子水  
 匀浆器（如果是组织样本）

## 试剂准备

**注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。**

提取液：即用型；4℃ 保存。

工作液：将试剂二和试剂三转移至试剂一中，充分混合溶解，用不完的试剂分装后-20℃ 保存，避免反复冻融。

试剂四：临用前配制，48T 加入 2mL 去离子水，96T 加入 4mL 去离子水，充分溶解待用；用不完的试剂分装后-20℃ 保存，避免反复冻融。

## 样本制备

组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，15,000g，4℃ 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

细菌或真菌：收集 500 万细菌或真菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细菌或真菌，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 15,000g，4℃ 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

**注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃ 保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 Bradford 蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。**

## 产品说明书

### 实验步骤

1. 酶标仪或紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 340nm。紫外分光光度计去离子水调零。
2. 工作液置于 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）水浴 10min。
3. 样本测定：在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中加入 10 μL 样本、150 μL 工作液和 40 μL 试剂四，混匀，记录 340nm 处 1min 时的吸光值  $A_1$  和 3min 时的吸光值  $A_2$ ，计算  $\Delta A = A_1 - A_2$ 。

**注意：**1. 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果  $\Delta A$  小于 0.001 可适当加大样本量或延长反应时间测量，注意计算公式中调整样品质量或时间；如果  $\Delta A$  大于 0.5，可用提取液稀释样品，计算时结果乘以稀释倍数。

2. 测定反应的温度对测定结果有影响，请控制在 25℃（一般物种）或者 37℃（哺乳动物）。
3. 因通过反应速率计算酶活，使用 96 孔 UV 板时请根据操作速度控制一次测定的样本数（通常一次测定 4-8 个样本）。

### 结果计算

#### A. 使用 96 孔板测定的计算公式

##### 1) 按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$ICL (U/g \text{ 鲜重}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 3215 \times \Delta A \div W$$

##### 2) 按细菌或真菌数量计算：

单位的定义：每 1 万个细菌或真菌在反应体系中每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$ICL (U/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 6.43 \times \Delta A$$

##### 3) 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$ICL (U/mg \text{ prot}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 3215 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， $2 \times 10^{-4}$ L； $\epsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$  L/mol /cm； $d$ ：96 孔板光径，0.5cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.01mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； $T$ ：反应时间，2min； $C_{\text{pr}}$ ：样本蛋白质浓度，mg/mL； $W$ ：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。

#### B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径  $d$ :0.5cm 调整为  $d$ :1cm 进行计算即可。

### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

- PMK1000 NAD 激酶 (NADK) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1120 己糖激酶 (HK) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1121 丙酮酸激酶 (PK) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1122 磷酸果糖激酶 (PFK) /6-磷酸果糖激酶/果糖-6-磷酸激酶
- PMK1228 莽草酸脱氢酶 (SD) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1217 乙酸激酶 (ACK) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

