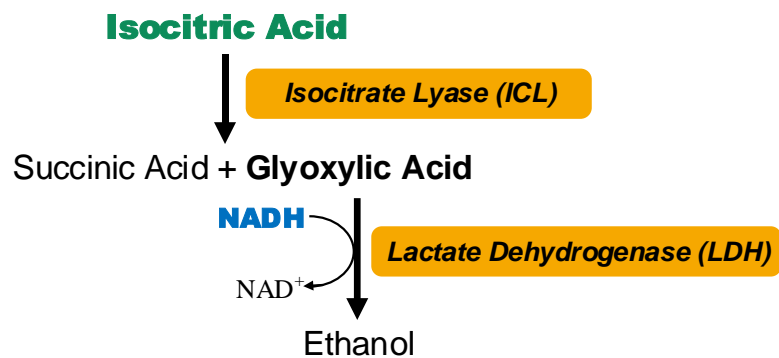




异柠檬酸裂解酶 (ICL) 活性检测试剂盒
Isocitrate Lyase (ICL) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



异柠檬酸裂解酶 (ICL) 活性检测试剂盒

Isocitrate Lyase (ICL) Activity Assay Kit

一、产品描述

异柠檬酸裂解酶 (ICL) 是乙醛酸循环的关键酶之一，主要存在于植物和微生物中，在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。

异柠檬酸裂解酶能够催化异柠檬酸分解为乙醛酸和琥珀酸，乙醛酸和 NADH 在乳酸脱氢酶的催化作用下生成乙醇和 NAD⁺，NADH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值的变化速率即可表征异柠檬酸裂解酶的活性。

二、产品内容

名称		试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	组分 A	液体 110 mL×1 瓶	4°C 保存	使用前将组分 B 加入组分 A 中充分混匀
	组分 B	粉剂×1 支	4°C 保存	
试剂一		液体 5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二		液体 4 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三		粉剂×2 瓶	-20°C 保存	使用前每瓶加入 2.5 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存两周，避免反复冻融)
试剂四		粉剂×2 瓶	-20°C 保存	使用前每瓶加入 5 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存两周，避免反复冻融)
试剂五		液体 40 μL×1 支	4°C 保存	使用按照试剂五:蒸馏水=1:8 体积比配制 (根据使用量现用现配)
试剂六		液体 5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
检测工作液的配制 (现用现配): 根据使用量按照试剂一: 试剂二: 试剂三: 试剂四: 试剂五 =29:35:42:42:3 的体积比配制, 充分混匀即为检测工作液。				

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿 (光径 10 mm) /96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、台式离心机、可调式移液器/多道移液器、恒温水浴和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 15000 g 离心 20 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4℃ 15000 g 离心 20 min，取上清置于冰上待测。

2.测定步骤

①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。

②在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
检测工作液	151
粗酶液	7
试剂六	42

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1；②37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）准确反应 120 s，测定 130 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2；③计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。

3.异柠檬酸裂解酶（ICL）活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ICL (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{4594 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ICL (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{4594 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ICL (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{4594 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ICL (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{2297 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ICL (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{2297 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ICL (U}/10^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{2297 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

注释： V样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.007 mL；V样总：粗酶液总体积，1 mL；V反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADH摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d_1 ：96孔UV板光径，0.5 cm； d_2 ：微量石英比色皿光径，1 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间，2 min。

四、注意事项

- ①测定过程中所有试剂和样本均需置于冰上放置，以免变性失活；
- ②准确在 20 s 和 80 s 处完成读数，以保证实验结果的准确性；若使用 96 孔 UV 板测定应使用多道移液器且分批进行测定，以确保组间反应时间一致；
- ③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

