

# 异柠檬酸(ICA)含量试剂盒(酶法)(微板法)

产品货号：BA3403

产品规格：96样

## 产品简介：

异柠檬酸是柠檬酸的异构体，虽然量少，但广泛存在于生物界。在落地生根属等多汁植物的叶、或悬钩子类中特别多，也是三羧酸循环中的一个成分。

本试剂盒提供一种特异性酶法检测异柠檬酸含量，利用异柠檬酸脱氢酶使异柠檬酸和NADP+生成 $\alpha$ -酮戊二酸、二氧化碳和NADPH，通过测定NADPH在340nm处吸光值的增加量，进而计算出样品中异柠檬酸含量。

## 产品内容：

产品名称	规格	保存条件	注意事项
提取液	液体100mL×1瓶	2-8°C	
试剂一	液体20mL×1瓶	2-8°C	
试剂二	粉剂1支	-20°C	1. 临用前8000g 4°C离心2min使粉剂落入管底（可手动甩一甩）； 2. 加入1.1mL蒸馏水溶解备用； 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂三	粉剂1支	-20°C	1. 临用前8000g 4°C离心2min使试剂落入管底（可手动甩一甩）； 2. 加入1.045mL蒸馏水溶解备用，可分装冻存。

## 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）、96孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

## 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：

① 组织样本：0.1g组织样本（水分充足的样本建议取0.5g左右），加1mL的提取液研磨，粗提液全部转移到EP管中，12000rpm，常温离心10min，上清液待测。

【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 液体样品：澄清液体样本可直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

③ 细菌/真菌样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取500万细菌或细胞加入1mL提取液；冰浴超声波破碎细菌或细胞（功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；12000rpm，常温离心10min，取上清置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/真菌数量( $10^4$ 个)：提取液体积(mL)为500~1000:1的比例提取。

### 2. 检测步骤：

① 酶标仪预热30min（等仪器过自检程序亦可），调节波长到340nm。

② 所有试剂解冻至室温(25°C)。

③ 先做2-4样本的预测定，确定适合本批样本的最适取样质量(W)和样本加样量(V1)。

④ 在96孔板中依次加入：



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂名称 ( $\mu\text{L}$ )	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	10	
试剂一	170	180
试剂二	10	10
混匀, 37°C 条件下, 10min 后于 340nm 处读取各管 A1		
试剂三	10	10
混匀, 37°C 条件下, 反应 30min 后于 340nm 处读取各管 A2 值, 若值继续增加可延长反应时间, 每隔 2min 读值(直至 2min 内值不变为止), $\Delta\text{A}=(\text{A}_2-\text{A}_1)$ 测定-(A2-A1)空白。		

【注】若 $\Delta\text{A}$ 过小, 可以增加样本取样质量 (如 0.2g), 或增加样本量 (如 40 $\mu\text{L}$ , 则试剂一相应减少)。调整后的样本质量 W 和样本量体积 V1 需代入计算公式重新计算。

### 结果计算:

1. 按组织质量计算:

$$\text{异柠檬酸含量 (mg/g 鲜重)} = [\Delta\text{A} \div (\varepsilon \times d)] \times V_2 \times 10^3 \times M_r \div (W \times V_1 \div V) = 1.23 \times \Delta\text{A} \div W$$

2. 按样本蛋白浓度计算:

$$\text{异柠檬酸含量 (mg/mg prot)} = [\Delta\text{A} \div (\varepsilon \times d)] \div (V_1 \times C_{\text{pr}}) = 1.23 \times \Delta\text{A} \div C_{\text{pr}}$$

3. 按液体样品的体积计算:

$$\text{异柠檬酸含量 (mg/mL)} = [\Delta\text{A} \div (\varepsilon \times d)] \times V_2 \times 10^3 \times M_r \div V_1 = 1.23 \times \Delta\text{A}$$

4. 按细胞数量计算:

$$\text{异柠檬酸含量 (mg/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta\text{A} \div (\varepsilon \times d)] \times V_2 \times 10^3 \times M_r \div (\text{细胞数量} \times V_1 \div V) = 1.23 \times \Delta\text{A} \div \text{细胞数量}$$

$\varepsilon$ --NADPH 的摩尔吸光系数为  $6.3 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ;  $d$ --光径距离, 0.5cm;  $V$ --提取液体积, 1mL;

$V_1$ --样本体积,  $10\mu\text{L}=0.01\text{mL}$ ;  $V_2$ --反应总体积,  $200\mu\text{L}=2 \times 10^{-4}\text{L}$ ;  $M_r$ --异柠檬酸分子量, 192.1;

$W$ --样本质量, g; 最低检测线---5mg/L。 $C_{\text{pr}}$ --样本蛋白质浓度, mg/mL; 细胞数量--万;

建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。



**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

扫一扫 加微信