

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 α -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℃	
试剂一	液体20mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	粉剂1支	-20℃	1. 临用前8000g 4℃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	液体1支	-20℃	1. 临用前8000g 4℃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℃)。

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: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

试剂名称 (μL)	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℃条件下, 10min 后于 340nm 处读取各管 A1		
试剂三	10	10
混匀, 37℃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), $\Delta A = (A2 - A1)$ 测定-(A2-A1)空白。		

【注】若 ΔA 过小, 可以增加样本取样质量 (如 0.2g), 或增加样本量 (如 40μL, 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:

$$\text{异柠檬酸含量 (mg/g 鲜重)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d)] \times V2 \times 10^3 \times Mr \div (W \times V1 \div V) = 1.23 \times \Delta A \div W$$

2. 按样本蛋白浓度计算:

$$\text{异柠檬酸含量 (mg/mg prot)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d)] \div (V1 \times Cpr) = 1.23 \times \Delta A \div Cpr$$

3. 按液体样品的体积计算:

$$\text{异柠檬酸含量 (mg/mL)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d)] \times V2 \times 10^3 \times Mr \div V1 = 1.23 \times \Delta A$$

4. 按细胞数量计算:

$$\text{异柠檬酸含量 (mg/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d)] \times V2 \times 10^3 \times Mr \div (\text{细胞数量} \times V1 \div V) = 1.23 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

ϵ ---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;

V1---样本体积, $10\mu\text{L} = 0.01\text{mL}$; V2---反应总体积, $200\mu\text{L} = 2 \times 10^{-4}\text{L}$; Mr---异柠檬酸分子量, 192.1;

W---样本质量, g; 最低检测线---5mg/L。Cpr---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。



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