

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°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	液体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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

QQ: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

- 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：

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)， $\Delta A = (A_2 - A_1)$ 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：

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

2. 按样本蛋白浓度计算：

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

3. 按液体样品的体积计算：

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

4. 按细胞数量计算：

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

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;

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_{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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>