

## 胞浆异柠檬酸脱氢酶(ICDHc)活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYHA6-M48	胞浆异柠檬酸脱氢酶 (ICDHc)活性检测试剂盒	48T	微量法
AYHA6-M96		96T	

### 一、测定意义：

胞浆异柠檬酸脱氢酶（ICDHc）是细胞内代谢中的关键酶，其活性测定在临床诊断、科研及疾病机制研究中具有重要意义。ICDHc 测定是理解细胞代谢、氧化还原平衡及疾病机制的重要工具，尤其在肿瘤、代谢性疾病及氧化应激研究中具有应用价值。其临床意义需结合具体疾病背景及其他生物标志物综合判断。

### 二、测定原理：

胞浆异柠檬酸脱氢酶(ICDHc)催化异柠檬酸转化为 $\alpha$ -酮戊二酸，同时伴随 NADP<sup>+</sup>还原为 NADPH。NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过监测吸光度变化可计算酶活性。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 9mL×1 瓶	液体 18mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	液体 1mL×1 支	液体 1mL×2 支	-20℃保存
试剂三	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	-20℃保存
试剂三的配制：用时每瓶粉剂加入蒸馏水 1.5mL，混匀充分溶解，现用现配。			

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

- 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）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。
- 2、细菌、细胞：按照细胞数量 10<sup>4</sup> 个：提取液体积（mL）500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细

胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

### 测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零；
- 2、测定前将试剂恢复至常温；
- 3、操作表（在96孔UV板中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	空白管
样品（ $\mu$ L）	20	-
双蒸水（ $\mu$ L）	-	20
试剂一（ $\mu$ L）	160	160
试剂二（ $\mu$ L）	10	10
试剂三（ $\mu$ L）	20	20
混合均匀，记录 340nm 处 20s 时吸光值 A1 和 5min20s 时的吸光值 A2，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ； $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。（空白管只做 1-2 管）		

### 五、胞浆异柠檬酸脱氢酶(ICDHc)活性测定：

- 1、按样本蛋白浓度计算

**单位定义：**每毫克蛋白每分钟生成 1nmol NADPH 为一个酶活力单位。

**计算公式：**ICDHc (nmol/min/mg prot) =  $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = \Delta A \times 562.6 \div \text{Cpr}$

- 2、按样本鲜重计算

**单位定义：**每克组织每分钟生成 1nmol NADPH 为一个酶活力单位。

**计算公式：**ICDHc (nmol/min/g) =  $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = \Delta A \times 562.6 \div W$

- 3、按照细菌或细胞数量计算

**单位定义：**每 1 万个细菌或细胞每分钟生成 1nmol NADPH 为一个酶活力单位。

**计算公式：**ICDHc (nmol/min/10<sup>4</sup> cell) =  $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div$

$$(V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = \Delta A \times 1.13$$

$V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积,  $2.1 \times 10^{-4}$  L;  $\epsilon$ : NADPH,  $6.22 \times 10^3$  L/mol/cm;

$d$ : 96 孔 UV 板光径, 0.6cm;  $V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.02mL;  $V_{\text{样总}}$ :

加入提取液体积, 1mL;  $T$ : 反应时间, 5min;  $C_{\text{pr}}$ : 样本蛋白质浓度,

mg/mL;  $10^9$ : 单位换算系数,  $1\text{mol}=10^9\text{nmol}$ ;  $W$ : 样本质量, g。

## 六、 注意事项:

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。

### 【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

### 【售后微信】



### 【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日