

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
PYFC3-C24	胞浆异柠檬酸脱氢酶 (ICDHc)活性检测试剂盒	24T	常量法
PYFC3-C48		48T	

一、测定意义：

胞浆异柠檬酸脱氢酶 (ICDHc) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中。ICDHc 是细胞质中除了磷酸戊糖途径外又一种 NADPH 重要来源，在逆境中该酶活性通常会发生显著变化。它可以帮助我们了解细胞质中 NADPH 的重要来源之一的活性情况，以及在逆境中该酶活性的变化。

二、测定原理：

胞浆异柠檬酸脱氢酶(ICDHc)催化异柠檬酸转化为 α -酮戊二酸，同时伴随 NADP⁺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(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 3mL×1 瓶	液体 6mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	液体 1.5mL×1 支	液体 1.5mL×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 3mL，混匀充分溶解，现用现配。

四、操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量 (g)：提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液) 处理样品，室温研磨至匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清即为粗酶液，置于冰上待测。

测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零；
- 2、测定前将试剂平衡至常温；
- 3、操作表 (在比色皿中依次加入下列试剂)：

试剂名称	测定管	空白管
样品 (μL)	100	-
蒸馏水 (μL)	-	100
试剂一 (μL)	800	800
试剂二 (μL)	50	50
试剂三 (μL)	100	100

混合均匀，记录 340nm 处 20s 时吸光值 A1 和 5min20s 时的吸光值 A2，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$ 。 $\Delta A_{\text{空白}} = A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}}$ ； $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。 (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 (U/min/mg prot) = $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = \Delta A \times 337.62 \div C_{\text{pr}}$

- 2、按样本质量计算

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 (U/min/g) = $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = \Delta A \times 337.62 \div W$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积， 1.05×10^{-3} L； ε ：NADH， 6.22×10^3 L/mol/cm；
 d 比色皿光径，0.6cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.1mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； T ：反应时间，5min； C_{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：

- 1、样本测试前请选取 2 个预期差异最大的样本，稀释成不同浓度进

行预试，以选取最佳取样浓度；

2、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。

【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