



## 异柠檬酸裂解酶活性检测试剂盒

### ICL Assay Kit

紫外分光光度法

产品编号: AK465U

产品规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES465	50mL×1 瓶	4℃保存;
AK465-A	15mL×1 瓶	4℃保存;
AK465-B	15mL×1 瓶	4℃保存;
AK465-C	粉剂×3 瓶	-20℃保存; 临用前每瓶加入5mL蒸馏水, 充分混匀待用; 剩余试剂仍-20℃保存;
AK465-D	粉剂×3 瓶	-20℃保存; 临用前每瓶加入5mL蒸馏水, 充分混匀待用; 剩余试剂分装后-20℃保存, 禁止反复冻融。
AK465-E	800μL×2 支	4℃保存; 临用前每支加入560μL蒸馏水, 充分混匀待用; 剩余试剂仍4℃保存;
AK465-F	粉剂×3 瓶	4℃保存; 临用前每瓶加入5mL蒸馏水, 充分混匀待用。 剩余试剂-20℃保存;

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

**意义:** 异柠檬酸裂解酶 (isocitrate lyase, ICL; EC4.1.3.1) 主要存在于植物和微生物中, 油料作物种子在萌发过程中, 通过乙醛酸循环及其他过程将脂肪转变成碳水化合物。ICL 是乙醛酸循环的关键酶之一。

**原理:** ICL 催化异柠檬酸降解为乙醛酸和琥珀酸, 乙醛酸和 NADH 在 LDH 的作用下生成乙醇和 NAD, NADH 在 340nm 下有特征吸收峰, 监测 340nm 吸光度的减小速率可间接反应 ICL 活性。

自备用品:

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿、台式离心机、水浴锅、移液器、研钵、冰和蒸馏水。

样品处理:

1. 细菌或培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 ( $10^4$  个): ES465 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL ES465), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 15000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
2. 组织: 按照组织质量 (g): ES465 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL ES465), 进行冰浴匀浆。15000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定步骤:

1. 紫外分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 340nm, 蒸馏水调零。
2. 样本测定

试剂名称	测定管 (μL)
AK465-A	300
AK465-B	250
AK465-C	300
AK465-D	300

AK465-E	20
样本	50
混匀，37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）水浴 5min	
AK465-F	300
将上述试剂按顺序加入 1 mL 玻璃比色皿中，加 AK465-F 的同时开始计时，在 340nm 波长下记录 20 秒时的初始吸光度 A1 和 2 分 20 秒时的吸光度 A2，计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。	
<b>注意：</b> 若一次性测定样本较多，可将 AK465-A, B, C, D, E, 和样本按比例配成混合液，在 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）水浴 5min 以上，测定时加入 1220 $\mu$ L 混合液和 300 $\mu$ L AK465-F 测定。	

#### ICL 酶活性计算公式：

1. 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ICL (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 2443 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ICL (U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2443 \times \Delta A \div W$$

3. 按细菌或细胞密度计算：

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ICL (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 4.886 \times \Delta A$$

**注：**V 反总：反应体系总体积，1.52 $\times 10^{-3}$  L； $\epsilon$ ：NADH 摩尔消光系数，6.22 $\times 10^3$  L / mol /cm；d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.05 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，2 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。

#### 注意事项：

1. 测定过程中样本和所有试剂在冰上放置，以免变性和失活。
2. 1mL 石英比色皿中反应液的温度必须保持 37℃或 25℃，取小烧杯一只装入一定量的 37℃或 25℃蒸馏水，将此烧杯放入 37℃或 25℃水浴锅中，在反应过程中把 1mL 石英比色皿连同反应液放在此烧杯中。