

CheKine™ 胞浆异柠檬酸脱氢酶 (ICDHc) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB1251

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动植物组织、细胞、细菌、血清 (浆)
	保质期: -20°C避光保存 6 个月

01 背景与原理

胞浆异柠檬酸脱氢酶 (Isocitrate Dehydrogenase Cytoplasmic, ICDHc) (EC 1.1.1.42) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中, 催化异柠檬酸脱氢脱羧生成 α -酮戊二酸, 同时还原 NADP^+ 生成 NADPH 。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。

本试剂盒检测原理是利用 ICDHc 催化 NADP^+ 还原成 NADPH 反应, 在 340 nm 下测定 NADPH 浓度的增加。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	60 mL×2	4°C
Reagent I	11 mL	22 mL	4°C, 避光保存
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4°C
Reagent III	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20°C, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 340 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	UV 板
试剂	去离子水/PBS	试剂稀释用/样本清洗用
其他	匀浆器 (组织样本)、恒温水浴锅、制冰机、离心机、 可调式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 **2-3** 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存
Working Solution	临用前配制，将 Reagent II 转移至 Reagent I 中，充分溶解	未用完的试剂 4℃可保存一个月
Working Reagent III	临用前配制，对于 48 T 试剂盒，向 Reagent III 加入 0.6 mL 去离子水充分溶解粉剂；对于 96 T 试剂盒，向 Reagent III 加入 1.2 mL 去离子水充分溶解粉剂	未用完的试剂-20℃分装避光可保存两周，避免反复冻融

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。该试剂盒提取的样本也可以适用于 KTB1120、KTB1341 的测定。

- 组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，8000 g，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。
- 细胞或细菌：收集 5×10^6 个细胞或细菌，用预冷的 PBS 清洗细胞或细菌，800 g 离心 2 min，弃上清。加入 1 mL Extraction Buffer 进行冰浴超声破碎。超声波破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），4℃，8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。
- 血清（浆）：直接测定。

05-3 实验步骤

注意：因通过单位时间内吸光值变化计算酶活，不推荐同时测多个样本。

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 340 nm。
2. Working Solution 于 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）孵育 10 min。
3. 检测体系配制：在 96 孔 UV 板中依次加入 10 μ L 样本、180 μ L Working Solution 和 10 μ L Working Reagent III。

4. 吸光度检测：加入工作液后，立即混匀测定 340 nm 处吸光值。记录第 20 s 和 2 min 20 s 时吸光值，分别记录为 A_1 和 A_2 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

2. 样本 ICDHc 活性计算

● 按样本质量计算

单位的定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ICDHc (U/g)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 3215.43 \times \Delta A \div W$$

● 按细胞或细菌数量计算：

单位的定义：每 10^4 个细胞或细菌每分钟生成 1 nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ICDHc (U/10}^4\text{)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times N) \div T = 3215.43 \times \Delta A \div N$$

● 按血清（浆）计算

单位的定义：每 mL 血清（浆）每分钟生成 1 nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ICDHc (U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 3215.43 \times \Delta A$$

● 按蛋白浓度计算

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

$$\text{ICDHc (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 3215.43 \times \Delta A \div Cpr$$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADPH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； 10^9 ：单位换算系数， $1 \text{ mol} = 1 \times 10^9 \text{ nmol}$ ； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.01 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入 Extraction Buffer 体积，1 mL； T ：反应时间，2 min； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； W ：样品质量，g； N ：细胞或细菌数量，以 10^4 为单位（例如细胞数量为 5×10^6 ， $N=500$ ）。

07 结果展示

示例-1：取 0.113 g 兔子肝脏，按照测定步骤操作，用 96 孔 UV 板进行检测。测得 $\Delta A = A_2 - A_1 = 0.450 - 0.290 = 0.160$ 。按样本质量计算得：ICDHc (U/g) = $3215.43 \times \Delta A \div W = 4552.82 \text{ U/g}$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 ΔA 过高或者过低怎么办？

如果 ΔA 小于 0.01 可适当加大样本量或延长反应时间到 5 min 或 10 min。如果 ΔA 大于 0.5，样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释，或减少提取用样本量，再重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1015	CheKine™ α-葡萄糖苷酶活性检测试剂盒（微量法）
KTB1121	CheKine™ 丙酮酸（PA）含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 胞浆异柠檬酸脱氢酶（ICDHc）活性检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB1251)

