

丙酮酸脱羧酶（PDC）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1006

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/48S 96T/96S

适用样本：酵母、动植物组织、细胞或细菌、血清（浆）等液体样本

产品简介

丙酮酸脱羧酶（pyruvate decarboxylase, PDC）主要存在于酵母和植物体以及少数细菌如：运动发酵单胞菌中，也存在于某些鱼类（包括金鱼和鲤鱼）中。PDC 是乙醇发酵的关键酶之一，催化丙酮酸脱羧生成乙醛。本试剂盒可检测各种样本中 PDC 的活性，其原理是 PDC 催化丙酮酸脱羧生成乙醛，添加乙醇脱氢酶（ADH）来进一步催化 NADH 还原乙醛生成乙醇和 NAD⁺，NADH 在 340nm 有特征吸收峰，而 NAD⁺没有，通过测定 340nm 光吸收下降速率，来计算 PDC 活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	9mL	18mL	-20℃避光保存
试剂二	1.25mL	2.5mL	4℃保存
试剂三	1	1	-20℃避光保存
试剂四	30 μL	60 μL	-20℃避光保存
试剂五	1mL	2mL	4℃避光保存

自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测 340nm 处的吸光度）
96 孔 UV 板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头
低温离心机、水浴锅
去离子水
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

提取液：即用型；使用前，平衡到室温，使用前请摇匀；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；-20℃避光保存。

混合试剂：临用前配制，将试剂三和试剂四用适量试剂二溶解后，再全部转移到试剂二中备用。用不完的试剂-20℃避光分装保存，避免反复冻融。

试剂五：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

样本制备

组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，10,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。
酵母、细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 10,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

产品说明书

血清（浆）等液体样本：直接检测。

注意：推荐使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80℃下保存一个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用Bradford法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 340nm，紫外分光光度计用去离子水调零。
2. 试剂一 25℃水浴提前预热 30min。
3. 在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入 140 μL 试剂一，20 μL 混合试剂，20 μL 试剂五和 20 μL 样本迅速混匀，测定 340nm 处吸光值。记录第 10s 和 70s 时吸光值，分别记录为 A₁ 和 A₂。ΔA_测=A₁-A₂。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 ΔA_测 小于 0.002 可适当加大样本量。如果 ΔA_测 大于 0.4，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

A. 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

1. 血清（浆）PDC 活力的计算

单位的定义：25℃中，每毫升血清（浆）在反应体系中每分钟催化 1nmol NADH 氧化定义为一个酶活力单位。

$$\text{PDC (U/mL)} = [\Delta A_{\text{测}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样本}} \div T = 3215 \times \Delta A_{\text{测}}$$

2. 组织中 PDC 活力的计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：25℃中，每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化 1nmol NADH 氧化定义为一个酶活力单位。

$$\text{PDC (U/mg prot)} = [\Delta A_{\text{测}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样本}} \times \text{Cpr}) \div T = 3215 \times \Delta A_{\text{测}} \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本质量计算

单位的定义：25℃中，每 g 组织在反应体系中每分钟催化 1nmol NADH 氧化定义为一个酶活力单位。

$$\text{PDC (U/g 质量)} = [\Delta A_{\text{测}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 3215 \times \Delta A_{\text{测}} \div W$$

3. 细菌或细胞中 PDC 活力的计算

按细菌或细胞数量计算

单位的定义：25℃中，每 1 万个细菌或细胞在反应体系中每分钟催化 1nmol NADH 氧化定义为一个酶活力单位。

$$\text{PDC (U/10}^4\text{)} = [\Delta A_{\text{测}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}} \times 500) \div T = 6.4 \times \Delta A_{\text{测}}$$

V_{反应}：反应体系总体积，0.2mL=2×10⁻⁴L，V_{提取}：提取液体积，1mL；V_{样本}：反应体系中上清液体积，0.02mL；

ε：NADH 摩尔消光系数，6.22×10³L/mol/cm；d：96 孔板直径，0.5cm；Cpr：蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间，1min；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万；10⁹：单位换算系数，1mol=10⁹nmol。

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径 d：0.5 cm 调整为 d：1cm 进行计算即可。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1019 脂肪酸合成酶（FAS）检测试剂盒（微量法）
- PMK1137 游离脂肪酸（FFA）检测试剂盒（微量法）
- PMK1143 总胆固醇（TC）检测试剂盒（微量法）
- PMK1144 游离胆固醇（FC）检测试剂盒（微量法）
- PMK1151 高密度脂蛋白（HDL-C）检测试剂盒（微量法）
- PMK1152 低密度脂蛋白（LDL-C）检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

