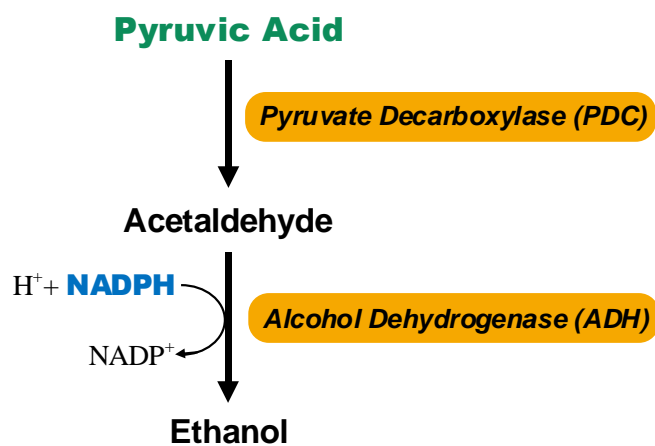




丙酮酸脱羧酶 (PDC) 活性检测试剂盒
Pyruvate Decarboxylase (PDC) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



丙酮酸脱羧酶 (PDC) 活性检测试剂盒

Pyruvate Decarboxylase (PDC) Activity Assay Kit

一、产品描述

丙酮酸脱羧酶 (PDC) 是焦磷酸硫胺素 (ThPP) 依赖性的非氧化酶, 作为丙酮酸合成乙醇的关键酶, 广泛存在于酵母菌、霉菌、细菌和植物等多种生物体中, 可催化丙酮酸脱羧生成乙醛, 在有机化学、药物中间体化合物合成及手性催化等方面具有重要应用。

丙酮酸脱羧酶能够催化丙酮酸脱羧生成乙醛, 乙醇脱氢酶 (ADH) 进一步催化乙醛和 NADH 生成乙醇和 NAD⁺, NADH 在 340 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值的下降速率即可表征丙酮酸脱羧酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 110 mL×1 瓶	4°C保存	内含不溶物, 充分混匀后使用
试剂一	组分 A	液体 14 mL×1 瓶	使用前将组分 B 和组分 C 加入组分 A 中充分溶解 (可分装后-20°C保存, 可保存 1 个月)
	组分 B	液体 1 mL×1 支	
	组分 C	粉剂×1 支	
试剂二	液体 10 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	液体 3 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂四	粉剂×1 支	-20°C保存	使用前加入 300 μL 蒸馏水充分溶解 (可分装后-20°C保存, 可保存 2 周)
试剂五	粉剂×1 支	-20°C保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (可分装后-20°C保存, 可保存 2 周)
PDC 工作液的制备 (现用现配): 根据使用量按照试剂三: 试剂四: 试剂五=87:8:5 的体积比配置, 充分混匀即为 PDC 工作液。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿 (光径 1 cm) /96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

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）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 15000 g 离心 20 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞到离心管内，按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20%，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4℃ 15000 g 离心 20 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①紫外分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。

②试验前将试剂一和试剂二 37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）预热 30min。

③在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
试剂一	100	100
试剂二	60	60
PDC 工作液	20	20
粗酶液	20	-
蒸馏水	-	20

吸光值测定：①充分混匀并开始计时，测定 10 s 时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；

②测定 70 s 时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 ΔA 测定 = A1 测定 - A2 测定， ΔA 空白 = A1 空白 - A2 空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定 - ΔA 空白。注：空白组只需测定 1-2 次。

3.丙酮酸脱羧酶（PDC）活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化 1 μmol NADH 氧化定义为一个酶活力单位。

$$\text{PDC (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_1 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{3.2 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化 1 μmol NADH 氧化定义为一个酶活力单位。

$$\text{PDC (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{3.2 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 万个细菌或细胞每分钟催化 1 μmol NADH 氧化定义为一个酶活力单位。

$$\text{PDC (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_1 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{3.2 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟催化 1 μmol NADH 氧化定义为一个酶活力单位。

$$\text{PDC (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 3.2 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，0.2 mL= 2×10^{-4} L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d_1 ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间，1 min；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计； 10^6 ：单位换算系数，1 mol= 10^6 μmol 。

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述公式中 96 孔 UV 板光径 ($d_1=0.5$ cm) 更换为微量石英比色皿光径 ($d_2=1$ cm) 进行计算。

四、注意事项

- ①测定过程中 PDC 工作液和样本需在冰上放置，以免变性失活；
- ②准确在 10 s 和 70 s 处完成读数，以保证实验结果的准确性；若使用 96 孔 UV 板应使用多道移液器且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；
- ③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。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

