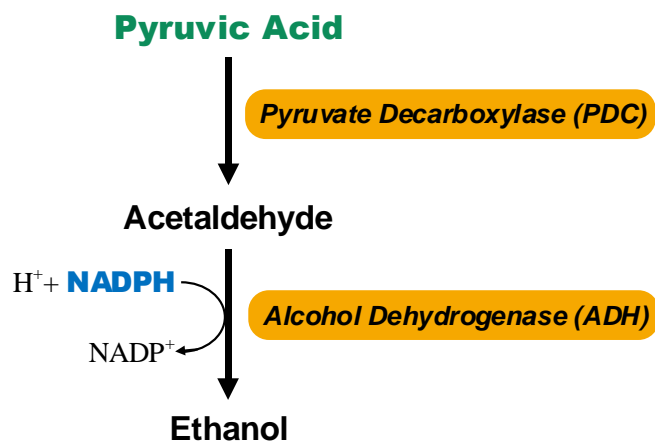




丙酮酸脱羧酶 (PDC) 活性检测试剂盒  
Pyruvate Decarboxylase (PDC) Activity Assay Kit



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<sup>+</sup>, 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 60 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 28 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 2 mL×1 瓶	
	组分 C	粉剂×1 支	
试剂二	液体 20 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	液体 7 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂四	粉剂×1 支	-20°C保存	使用前加入 600 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)
<b>PDC 工作液的制备 (现用现配):</b> 根据使用量按照试剂三: 试剂四: 试剂五=35:3:2 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、1 mL 石英比色皿 (光径 1 cm)、研钵/匀浆器、可调式移液器、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°C 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°C 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°C（哺乳动物）或 25°C（其他物种）预热 30min。

③在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 ( $\mu\text{L}$ )	空白组 ( $\mu\text{L}$ )
试剂一	500	500
试剂二	300	300
PDC 工作液	100	100
粗酶液	100	-
蒸馏水	-	100

**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  $\Delta A$  测定 = A1 测定 - A2 测定， $\Delta A$  空白 = A1 空白 - A2 空白， $\Delta A = \Delta A$  测定 -  $\Delta A$  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

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  $\mu\text{mol}$  NADH 氧化定义为一个酶活力单位。

$$\text{PDC (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\varepsilon \times d \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1.6 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化 1  $\mu\text{mol}$  NADH 氧化定义为一个酶活力单位。

$$\text{PDC (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\varepsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1.6 \times \Delta A}{W}$$

### 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  $1 \mu\text{mol}$  NADH 氧化定义为一个酶活力单位。

$$\text{PDC (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1.6 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

### 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  $1 \mu\text{mol}$  NADH 氧化定义为一个酶活力单位。

$$\text{PDC (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 1.6 \times \Delta A$$

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.1 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， $1 \text{ mL} = 1 \times 10^{-3} \text{ L}$ ； $\epsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ；d：1 mL 石英比色皿光径，1 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， $1 \text{ mol} = 10^6 \mu\text{mol}$ 。

## 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；
- 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.**

