

Pyruvate Decarboxylase Activity Assay Kit

丙酮酸脱羧酶（PDC）活性测定试剂盒说明书

货号:BN72163| 方法: 紫外分光法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

丙酮酸脱羧酶（PDC，EC4.1.1.1）。是乙醇发酵的关键酶之一，催化丙酮酸脱羧生成乙醛，存在于酵母和植物体中。

PDC 催化丙酮酸脱羧生成乙醛，乙醇脱氢酶进一步催化 NADH 还原乙醛生成乙醇和 NAD⁺；通过测定 NADH 在 340 nm 处的光吸收下降速率，即可得到 PDC 酶活性大小。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂一	液体 32mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂二	粉体 mg×1 支	4℃ 保存	使用前甩几下使试剂落入底部，再加 2.1mL 蒸馏水混匀备用。
试剂三	粉体 mg×2 支	-20℃ 保存	使用前甩几下使试剂落入底部，每支加 1.1mL 蒸馏水混匀备用，用不完的试剂分装后-20℃ 保存，禁止反复冻融，三天内用完。
试剂四	液体 μL×1 支	-20℃ 保存	使用前甩几下使试剂落入底部，再加 2.1mL 蒸馏水混匀备用。

三、所需的仪器和用品:

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿（光径 1cm）、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

四、丙酮酸脱羧酶（PDC）活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备:

① 组织样本:

称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm，4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液；冰浴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）；12000rpm，4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（10⁴ 个）：提取液（mL）为 1:1000~5000 比例进行提取。

2、上机检测:

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 所有试剂解冻至室温（25℃）。

③ 依次在 1mL 石英比色皿中加入：

试剂名称（μL）	测定管
----------	-----

样本	40
试剂一	640
试剂二	40
试剂三	40
试剂四	40
混匀,30℃条件下,10S时于340nm处读取A1,10min后读取A2。△A=A1-A2。	

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按照蛋白浓度计算

酶活定义：30℃条件下，每毫克蛋白每分钟氧化 1nmol NADH 为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{PDC (nmol/min/mg prot)} &= [\Delta A \div \epsilon \div d \times V_2 \times 10^9] \div (\text{Cpr} \times V_1) \div T \\ &= 321.5 \times \Delta A \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

2、按照样本质量计算

酶活定义：30℃条件下，每克组织每分钟氧化 1nmol NADH 为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{PDC (nmol/min /g 鲜重)} &= [\Delta A \div \epsilon \div d \times V_2 \times 10^9] \div (W \times V_1 \div V) \div T \\ &= 321.5 \times \Delta A \div W \end{aligned}$$

3、按细胞数量计算

酶活定义：30℃条件下，每 10⁴ 个细胞每分钟氧化 1nmol NADH 为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{PDC (nmol/min/10}^4\text{cell)} &= [\Delta A \div \epsilon \div d \times V_2 \times 10^9] \div (\text{细胞数量} \times V_1 \div V) \div T \\ &= 321.5 \times \Delta A \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

4、按液体体积计算

酶活定义：30℃条件下，每毫升液体每分钟氧化 1nmol NADH 为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{PDC (nmol/min /mL)} &= [\Delta A \div \epsilon \div d \times V_2 \times 10^9] \div V_1 \div T \\ &= 321.5 \times \Delta A \end{aligned}$$

ε---NADH 摩尔消光系数，6.22×10³L/mol/cm；

d---比色皿光径，1cm；

V：加入提取液体积，1mL；

V1---反应体系中上清液体积，0.04mL；

V2---反应体系总体积，0.8mL=8×10⁻⁴ L，

W---样本质量，g ；

T：反应时间，10 min；

细胞数量：500 万；

Cpr: 蛋白浓度（mg/mL），建议使用本公司 BCA 蛋白质含量试剂盒。