

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/96T

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。本试剂盒可检测生物样本中 PDC 的活性，其原理是 PDC 催化丙酮酸脱羧生成乙醛，生成的乙醛可以与显色物反应，产物可以在 540nm 处测量吸光度，样本中的 PDC 活性与 OD 值成正比。

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	1mL	2mL	4℃ 避光保存
试剂四	2mL	4mL	4℃ 保存
试剂五	2mL	4mL	-20℃ 避光保存
试剂六	1mL	2mL	4℃ 保存
乙醛标准品（4M）	100 μ L	100 μ L	4℃ 保存

自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测 540nm 处的吸光度）

96 孔板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头

低温离心机、制冰机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

提取液：即用型；使用前请摇匀；4℃ 保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；分装-20℃ 避光保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 避光保存。

试剂四：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂五：即用型；使用前，平衡到室温；-20℃ 避光保存。

试剂六：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

标准品制备：用 9.99mL 去离子水稀释 10μL 乙醛标准品（4M），得到 4mM 的储存液。按下表所示，进一步稀释标准品。

产品说明书

标准品编号	标准品体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	标准品浓度 (μM)
标准品 1	40μL of 4mM	160	800
标准品 2	100μL of 标准品 1 (800μM)	100	400
标准品 3	100μL of 标准品 2 (400μM)	100	200
标准品 4	100μL of 标准品 3 (200μM)	100	100
标准品 5	100μL of 标准品 4 (100μM)	100	50
标准品 6	100μL of 标准品 5 (50μM)	100	25
标准品 7	100μL of 标准品 6 (25μM)	100	12.5

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

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。

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. 酶标仪或可见分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 540nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 试剂一 25℃提前预热 10min。
3. 样本测定（在 96 孔板或微量石英比色皿中按照如下方式加样）：

试剂 (μL)	空白	标准	测定
试剂一	140	140	140
试剂二	20	20	20
试剂三	20	20	20
去离子水	20	0	0
标准品	0	20	0
样本	0	0	20

充分混匀，室温孵育 20min

试剂二	30	30	30
试剂四	30	30	30

充分混匀，室温孵育 10min

试剂五	10	10	10
-----	----	----	----

4. 充分混匀，室温孵育 5min，测定 540nm 处的吸光值 A（如有明显气泡可吸取清液 200μL 到新的 96 孔板或微量玻璃比色皿中，再进行测定，注意不要吸到上层气泡）。计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

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 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 1.2，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数；如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.001，可增加样本量进行检测。

产品说明书

结果计算

1. 标准曲线的绘制:

以标准品浓度为 y 轴, $\Delta A_{\text{标}}$ 为 x 轴, 绘制标准曲线 (浓度为 y 轴更方便计算结果)。将 $\Delta A_{\text{测}}$ 带入方程计算出 y 值 ($\mu\text{M}=\text{nmol/mL}$)。

2. 样本 PDC 活性计算

(1) 按样本质量计算

单位的定义: 25℃ 环境下, 每 g 组织在反应体系中每分钟催化生成 1nmol 乙醛定义为一个酶活力单位 U。

PDC 活性 (U/g 质量) = $(y \times V_{\text{反总}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.5y \div W$

(2) 按液体样本体积计算

单位的定义: 25℃ 环境下, 每 mL 液体样本在反应体系中每分钟催化生成 1nmol 乙醛定义为一个酶活力单位 U。

PDC 活性 (U/mL) = $(y \times V_{\text{反总}}) \div V_{\text{样}} \div T = 0.5y$

(3) 按细胞数量计算

单位的定义: 25℃ 环境下, 每 1 万个细胞在反应体系中每分钟催化生成 1nmol 乙醛定义为一个酶活力单位 U。

PDC 活性 (U/ 10^4 cell) = $(y \times V_{\text{反总}}) \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.001y$

(4) 按样本蛋白浓度计算

单位的定义: 25℃ 环境下, 每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化生成 1nmol 乙醛定义为一个酶活力单位 U。

PDC 活性 (U/mg prot) = $(y \times V_{\text{反总}}) \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.5y \div C_{\text{pr}}$

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.2mL, $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.02mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 20min; W: 样本质量, g; C_{pr} : 蛋白浓度, mg/mL; ; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。

结果展示

典型标准曲线

乙醛 (μM)

注意事项

$\Delta A_{\text{标}}$

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:

