丙酮酸脱羧酶（pyruvate decarboxylase,PDC）活性测定试剂盒说明书

（货号：分光法 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	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	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	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。12000grrpm，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（10^4 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℃）。

② 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。	

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。

PDC (nmol/min/mg prot) =[△A÷ε÷d×V2×10^9]÷(Cpr×V1) ÷T

=321.5×△A÷Cpr

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。

PDC (nmol/min /g 鲜重) =[△A÷ε÷d×V2×10^9]÷(W×V1÷V) ÷T

=321.5×△A÷W

3、按细胞数量计算

酶活定义：30℃条件下，每 10^4 个细胞每分钟氧化 1nmol NADH 为 1 个酶活单位。

PDC (nmol/min/10^4cell) =[△A÷ε÷d×V2×10^9]÷(细胞数量×V1÷V) ÷T

=321.5×△A÷细胞数量

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。

PDC (nmol/min /mL) =[△A÷ε÷d×V2×10^9]÷V1÷T

=321.5×△A

ε---NADH 摩尔消光系数，6.22×10^3L/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。