

(本试剂盒仅供体外研究使用,不用于临床诊断!)

丙酮酸脱羧酶活性测定试剂盒 Pyruvate Decarboxylase (PDC) Activity Assay Kit

产品货号: BC00067

产品规格: 100T

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题,请通过以下方式联系我们:

☑邮箱 (销售) order@enkilife.cn

☑邮箱(技术支持) tech@enkilife.cn

念公司电话 027-87002838

一网址 www.enkilife.cn

订阅微信公众号 获取更多技术 信息及前沿动态

保质期:请见试剂盒外包装标签。

技术支持: 为了更好地给您提供服务, 联系时请告知产品外包装标签上批号。

基本信息

产品中文名称	丙酮酸脱羧酶活性测定试剂盒		
产品英文名称	Pyruvate Decarboxylase (PDC) Activity Assay Kit		
检测方法	Colorimetric		
样品类型	血清、血浆、动植物组织、细胞		
检测类型	Enzyme activity		
检测仪器及波长	酶标仪 (340 nm)		
检测范围	0.67-27.73 U/L		
灵敏度	0.67 U/L		

产品简介

丙酮酸脱羧酶 (PDC) 主要存在于酵母中,是乙醇发酵的关键酶之一。

检测原理

PDC 催化丙酮酸脱羧生成乙醛,乙醛在乙醇脱氢酶 (ADH) 作用下发生反应,同时催化 NADH 转化成 NAD+,NADH 在 340nm 有特征吸收峰,可通过测定 340nm 光吸收下降 速率来计算 PDC 活性。

PDC ADH

丙酮酸 → 乙醛+NADH ← → 乙醇+ NAD+

本试剂盒检测组织样本和细胞样本时,需测定总蛋白浓度,推荐使用 BCA 试剂盒进行测定。
(货号: BC00006)

产品组分

编号	产品名称	包装规格 (100T)	保存方式
试剂一	缓冲液	30mL	-20℃,使用后 2-8℃保存。
试剂二	底物 A	1 瓶	-20℃,使用后 2-8℃避光保存。
试剂三	酶试剂	1 支	未使用前 2-8℃保存,使用后-20℃保存。
试剂四	底物 B	1 支	未使用前 2-8℃保存,使用后-20℃避光保存。

耗材一	96 孔酶标板	1 板	RT
耗材二	96 孔覆膜	2 张	RT

保存条件

收到试剂盒后请按照"产品组分-保存方式"进行存放,有效期为6个月。

实验前准备

样品处理

- 组织样本匀浆:组织样本使用生理盐水 (0.9%NaCl) 匀浆处理,匀浆后 12000×g 4℃
 离心 10min,离心后,取上清待测。留取部分上清进行蛋白浓度测定。
- 2. 血清(浆)样本:直接检测。

• 试剂盒的准备工作

- 1. 检测前, 试剂盒中的试剂平衡至室温。
- 2. 试剂二工作液的配制:将一瓶试剂二加入 5mL 双蒸水,混匀,置于冰盒上避光待用, 未用完部分-20℃避光可保存 7 天,避免反复冻融。
- 试剂三工作液的配制:取一支试剂三加入 100μL 双蒸水,混匀,置于冰盒上避光待用, 未用完部分-20℃保存 3 天,避免反复冻融。
- 4. 试剂四工作液的配制:取一支试剂四加入2mL双蒸水,混匀,置于冰盒上避光待用, 未用完部分-20℃保存3天,避免反复冻融。

操作流程

- 1. 向空白孔加入 160µL 试剂一,测定孔加入 120µL 试剂一,
- 2. 向步骤(1)中各孔加入 20µL 试剂二工作液,
- 3. 向步骤(2)测定孔中加入 37µL 的双蒸水,
- 4. 向步骤(3)测定孔中加入 2µL 试剂四工作液,
- 5. 向步骤(4)测定孔中加入 1µL 试剂三工作液。
- 6. 向步骤(1)各孔中加入 20µL 待测样本。

7. 酶标仪 340nm 波长下测定空白孔和测定孔 1min 的 OD 值 A_1 和 3min 的 OD 值 A_2 ,并 计算变化 OD 值 ΔA , $\Delta A = A_1 - A_2$

操作表如下:

	测定孔 (μΙ)	空白孔 (μΙ)
试剂─	120	160
试剂二	20	20
双蒸水	37	-
试剂四	2	-
试剂三	1	_
待测样本	20	20

酶标仪 340nm 波长下测定空白孔和测定孔 1min 的 OD 值 A_1 和 3min 的 OD 值 A_2 ,并 计算变化 OD 值 ΔA , $\Delta A = A_1 - A_2$

结果计算

组织或细胞样本中丙酮酸脱羧酶(PDC)活力计算公式:

PDC 活力(U/gprot)=
$$\frac{\Delta A \, y - \Delta A \, \text{空白}}{\epsilon \times d} \div \text{Cpr} \div \text{T} \times \text{f} \times 10^6$$

定义: 37℃条件下,每克组织或细胞蛋白每分钟催化 NADH 产生 1µmol NAD 所需要的酶量为一个活力单位。

血清血浆样本丙酮酸脱羧酶(PDC)活力计算公式:

PDC 活力(U/L) =
$$\frac{\Delta A \gg - \Delta A \stackrel{\triangle}{\circ} = 1}{\epsilon \times d}$$
 ÷ T × f × 10⁶

定义: 37℃条件下,每升血清/血浆每分钟催化 NADH 产生 1µmol NAD 所需要的酶量为一个活力单位。

注解:ΔA 测:测定孔变化 OD 值A₁-A₂

 ΔA 空白: 空白孔变化 OD 值 A_1 - A_2

ε: NADH 摩尔消光系数, 6.22×10³ L/(mol•cm)

d: 酶标板光径, 0.6cm

Cpr: 待测样本的蛋白浓度, gprot/L

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

T: 反应时间, 2min

 10^6 : 1mol = $10^6 \mu$ mol

注意事项

1. 加样过程注意混合均匀,以防对检测结果造成影响。

- 2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器,严格按照说明书进行实验。
- 3. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低,请对样本做适当的稀释或浓缩。
- 4. 本产品仅限于专业人员的科学研究用,不得用于临床诊断或治疗,不得用于食品或药品,不得存放于普通住宅内。