

丙酮酸脱氢酶（PDH）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHF4-M48	丙酮酸脱氢酶（PDH）活性 检测试剂盒	48T	微量法
AMHF4-M96		96T	

一、测定意义：

丙酮酸脱氢酶是细胞能量代谢的核心调控酶，主要催化丙酮酸氧化脱羧生成乙酰辅酶A，为肝脏、心肌、脑组织等需能组织的TCA循环供能，其活性直接决定细胞有氧代谢效率。测定该酶活性可辅助诊断 PDH 缺乏症、肝脏损伤、神经退行性疾病等代谢异常相关疾病，也能评估肿瘤细胞有氧代谢抑制的程度，为疾病诊断与病情监测提供关键依据。

二、测定原理：

丙酮酸脱氢酶可催化丙酮酸发生氧化脱羧反应，生成乙酰辅酶 A 和 CO₂，该过程中产生的还原当量会特异性传递给电子受体 2,6-二氯酚靛酚（2,6-DCPIP），使 2,6-DCPIP 由氧化态的蓝色转变为还原态的无色。由于氧化态 2,6-DCPIP 在 600nm 波长下具有特征吸收峰，其吸光度下降速率与 PDH 催化反应的速率呈线性正相关，通过监测该波长下吸光度的变化即可定量推算 PDH 的活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 50mL×1 瓶	液体 100mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 2mL×1 支	液体 5mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 2mL×1 支	液体 5mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 2mL×1 支	液体 5mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 2mL×1 支	液体 5mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	2-8℃保存
试剂五的配制：每瓶加 2.5ml 蒸馏水，现用现配。			
工作液的配制：现用现配，按试剂一：试剂二：试剂三：试剂四：试剂五=1:1:1:1:1 的比例配制，用多少配多少。			

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量（g）:提取液(mL)为1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞：按照细胞数量 10⁴ 个：提取液体积（mL）500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

测定步骤

- 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 600nm，蒸馏水调零；
- 测定前将试剂恢复至常温；
- 样本测定（在 96 孔 UV 板中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	空白管
样品（μL）	10	-
双蒸水（μL）	-	10
工作液（μL）	190	190

记录 600nm 处 20s 时吸光值 A1 和 5min20s 时的吸光 A2，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ 。 $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ； $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。（空白管只做 1-2 管）

五、丙酮酸脱氢酶(PDH)活性计算：

- 按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每分钟消耗 1nmol 2,6-二氯酚靛酚为一个酶活力单位。

计算公式： $PDH \text{ (nmol/min/g)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 317.4 \times \Delta A \div W$

- 按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克蛋白每分钟消耗 1nmol 2,6-二氯酚靛酚为一个酶活力单位。

计算公式： $PDH \text{ (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 317.4 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

单位定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol 2,6-二氯酚靛酚
为一个酶活力单位。

计算公式：
$$\text{PDH (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 0.63 \times \Delta A$$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：2,6-二氯酚靛酚摩尔消光系数， 2.1×10^4 L/mol/cm； d ：96 孔 UV 板光径，0.6cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.01mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； T ：反应时间，5min； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL； 10^9 ：单位换算系数， $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ ； W ：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。

六、 注意事项：

实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测；

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日