

## 二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶（Rubisco）活性检测试剂盒

### 微量法

产品货号：BA1092

产品规格：100管/96样

#### 产品简介：

1,5-二磷酸核酮糖羧化/加氧酶（Rubisco, EC 4.1.1.39）是植物光合作用中的一个关键酶，既控制着CO<sub>2</sub>的固定，同时又制约着碳素向Calvin循环和光呼吸循环分流，其活性的大小直接影响着光合速率。

在Rubisco的催化下，1分子的核酮糖-1,5-二磷酸（RuBP）与1分子的CO<sub>2</sub>结合，产生2分子的3-磷酸甘油酸（PGA）；PGA可通过外加的3-磷酸甘油酸激酶和甘油醛-3-磷酸脱氢酶的作用，产生甘油醛-3-磷酸，伴随着NADH氧化生成NAD<sup>+</sup>；在340nm NADH有特征吸收峰，而NAD<sup>+</sup>没有此吸收峰，因此测定340nm吸光度下降速率可以代表Rubisco的羧化酶活性。

**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。

#### 产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体25mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	-20℃
试剂三	粉剂×2支	-20℃
试剂四	粉剂×1支	-20℃

#### 溶液的配制：

1. 试剂三：临用前取1支加入0.5mL蒸馏水充分溶解待用，振荡溶解后若出现浑浊可以离心使用；
2. 试剂四：临用前加入1mL蒸馏水充分溶解待用；
3. 工作液的配制：临用前在试剂二中加入全部试剂一，充分混匀，在25℃孵育5min。

#### 需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

#### 操作步骤：

##### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 细菌或细胞样本的制备：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每500万细菌或细胞加入1mL提取液，超声波破碎细菌或细胞（功率20%，超声3s，间隔10s，重复30次）；10000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。
2. 称取约0.1g组织加入1mL提取液，冰浴中匀浆。10000g，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。建议选取新鲜的植物样本。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

## 二、测定操作表：

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。
2. 按下表步骤加样：

试剂名称	测定管	空白管
样本 (μL)	20	-
蒸馏水 (μL)	-	20
试剂三 (μL)	7	7
试剂四 (μL)	7	7
工作液 (μL)	180	180

记录340nm处20s时吸光值A1和5min20s时的吸光值A2，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。反应温度保持在25℃（空白管只做1-2管）。

## 二、Rubisco活性计算

### a. 使用微量石英比色皿测定的计算公式如下：

1. 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：25℃中每毫克蛋白每分钟氧化1nmol NADH为一个酶活力单位。

$$\text{Rubisco活力 (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 344 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本质量计算

单位的定义：25℃中每g组织每分钟氧化1nmol NADH为一个酶活力单位。

$$\text{Rubisco活力 (U/g 质量)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 344 \times \Delta A \div W$$

3. 按细菌或细胞数量计算

单位的定义：25℃中每1万个细菌或细胞每分钟氧化1nmol NADH为一个酶活力单位。

$$\text{Rubisco活力 (U/10}^4\text{cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 0.69 \times \Delta A$$

V反总：反应体系总体积， $2.14 \times 10^{-4}$ L； $\epsilon$ ：NADH摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$ L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；V样：加入样本体积，0.02mL；V样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，5min；W：样本质量，g；500：细胞或细菌总数，500万； $10^9$ ：单位换算系数， $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ 。

### b. 使用96孔板测定的计算公式如下：

将上述公式中光径d-1cm改为d-0.6cm（96孔板光径）进行计算。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com