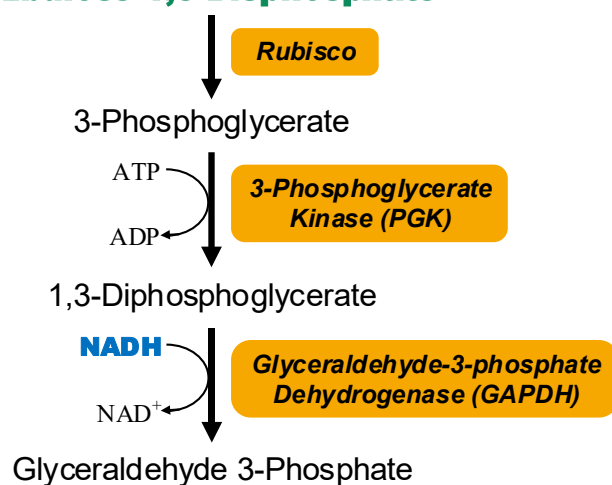




二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶（Rubisco）活性检测试剂盒

Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase (Rubisco) Activity Assay Kit

Ribulose-1,5-Bisphosphate



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶（Rubisco）活性检测试剂盒

Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase (Rubisco) Activity Assay Kit

一、产品描述

1,5-二磷酸核酮糖羧化/加氧酶（Rubisco）是植物光合作用中固定 CO_2 的关键酶，同时参与植物光呼吸代谢途径，制约着碳素向 Calvin 循环和光呼吸循环分流，作为一种能够催化羧化反应和加氢反应的双功能酶，其活性的大小对光合速率的研究具有重要意义。

Rubisco 可催化核酮糖-1,5-二磷酸（RuBP）和 CO_2 结合生成 3-磷酸甘油酸（PGA），3-磷酸甘油酸可进一步在 3-磷酸甘油酸激酶和甘油醛-3-磷酸脱氢酶的催化作用下生成甘油醛-3-磷酸，反应过程中伴随着 NADH 氧化生成 NAD^+ ，NADH 在 340 nm 处有特征吸收峰，通过测定吸光值的下降速率即可表征 Rubisco 活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×2 支	-20°C 保存	使用前每支加入 500 μL 蒸馏水充分溶解 (若出现浑浊可离心后使用)
试剂三	粉剂×1 支	-20°C 保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C 可保存 1 个月，避免反复冻融)
试剂四	粉剂×1 支	-20°C 保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C 可保存 1 个月，避免反复冻融)

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、台式离心机、可调式移液器/多道移液器、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量(10^4 个)：提取液体积(mL) 为 (500-1000)：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4°C 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

2.测定步骤

①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。

②在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	20	-
蒸馏水	-	20
试剂一	180	180
充分混匀，25℃反应 10 min		
试剂二	7	7
试剂三	7	7
试剂四	7	7

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 20 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②25℃恒温准确反应 600 s，测定 620 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。

注：空白组只需测定 1-2 次。

3.二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶（Rubisco）活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：25℃中每 mg 组织蛋白每分钟氧化 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Rubisco (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{355.3 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

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

$$\text{Rubisco (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{355.3 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：25℃中每 10^4 个细菌或细胞每分钟氧化 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Rubisco (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{355.3 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

注释：V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， 2.21×10^{-4} L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；T：反应时间，600 s = 10 min；W：样品质量，g；细胞或细菌数量：以万计； 10^9 ：单位换算系数，1 mol = 10^9 nmol。

四、注意事项

为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

