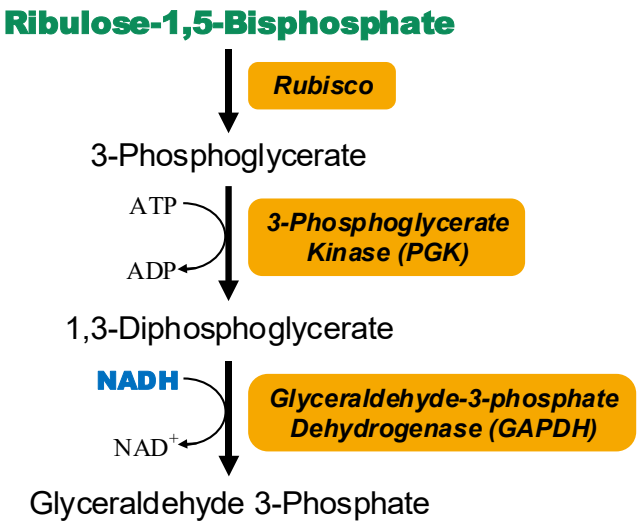
二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶（Rubisco）活性检测试剂盒

Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase (Rubisco) Activity Assay Kit



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 50 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 50 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 1 mL 蒸馏水充分溶解** （若出现浑浊可离心后使用）
试剂三	粉剂×1 瓶	-20°C保存	**使用前加入 2 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 瓶	-20°C保存	**使用前加入 2 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：紫外分光光度计、1 mL 石英比色皿（光径 10 mm）、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。

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

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紫外分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。

②在 1 mL 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	100	-
蒸馏水	-	100
试剂一	900	900
充分混匀，25℃反应 10 min		
试剂二	35	35
试剂三	35	35
试剂四	35	35

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 ΔA 测定=A1 测定-A2 测定，ΔA 空白=A1 空白-A2 空白，ΔA=ΔA 测定-ΔA 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。

$$\text{Rubisco（U/mg prot）} = \frac{\Delta A \times V_{反总} \times 10^9}{\varepsilon \times d \times Cpr \times V_{样} \times T} = \frac{178 \times \Delta A}{Cpr}$$

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。

$$\text{Rubisco（U/g）} = \frac{\Delta A \times V_{反总} \times V_{样总} \times 10^9}{\varepsilon \times d \times W \times V_{样} \times T} = \frac{178 \times \Delta A}{W}$$

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

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。

$$\text{Rubisco（U/10}^4\text{ cell）} = \frac{\Delta A \times V_{反总} \times V_{样总} \times 10^9}{\varepsilon \times d \times 细菌或细胞数量 \times V_{样} \times T} = \frac{178 \times \Delta A}{细菌或细胞数量}$$

注释：V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.1 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，1.105×10^{-3} L；ε：NADH 摩尔消光系数，6.22×10^3 L/mol/cm；d：1 mL 石英比色皿光径，1 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.