

# 二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶 (Rubisco) 活性检测试剂盒

## 紫外分光光度法

产品货号: BA1091

产品规格: 25管/24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 | 25T       | 保存条件 |
|------|-----------|------|
| 提取液  | 液体25mL×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℃ |

### 25T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、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL石英比色皿、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

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

## 二、测定操作表:

1. 分光光度计预热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)  | 100 | -   |
| 蒸馏水 (μL) | -   | 100 |
| 试剂三 (μL) | 35  | 35  |
| 试剂四 (μL) | 35  | 35  |
| 工作液 (μL) | 900 | 900 |

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

## 三、Rubisco活性计算

1. 按样本蛋白浓度计算

单位的定义: 25°C中每毫克蛋白每分钟氧化1 nmol 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°C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°C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,  $1.07 \times 10^{-3}$ 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, 0.1mL; 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,  $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ 。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com