

1,5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶 (Rubisco) 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
PMHB9-M48	1,5-二磷酸核酮糖羧化酶 (Rubisco) 活性检测试剂盒	48T	微量法
PMHB9-M96		96T	

一、 测定意义：

二磷酸核酮糖羧化酶 (RuBisCO) 是植物光合作用暗反应的关键限速酶，核心功能是催化 CO₂ 与二磷酸核酮糖 (RuBP) 结合实现碳同化，其活性直接决定植物光合碳固定效率与光合速率。测定该酶活性可评估环境胁迫对植物光合功能的影响，是解析光合调控机制、筛选高光效作物品种的核心指标。

二、 测定原理：

核酮糖-1,5-二磷酸与 CO₂ 结合，产生 3-磷酸甘油酸，在 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⁺，在 340nm 处 NADH 有特征吸收峰，从而通过测定 340nm 吸光度下降速率来反映 Rubisco 的羧化酶活性。

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 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	-20℃保存
试剂一：每瓶加 1ml 双蒸水，现用现配，配完-20℃保存；			
试剂二	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	-20℃保存
试剂二：每瓶加 2ml 双蒸水，现用现配，配完-20℃保存；			
试剂三	液体 15mL×1 瓶	液体 30mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂四	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	-20℃保存
试剂四：每瓶加 5ml 双蒸水，现用现配，配完-20℃可保存一周。			
试剂五	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	-20℃保存

试剂五：每瓶加 1ml 双蒸水，现用现配，配完-20℃保存。			
试剂六	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	-20℃保存
试剂六：每瓶加 1ml 双蒸水，现用现配，配完-20℃保存。			
试剂七	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	-20℃保存
试剂七：每瓶加 1ml 双蒸水，现用现配，配完-20℃保存。			
试剂八	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	-20℃保存
试剂八：每支加 0.6ml 双蒸水，现用现配，配完-20℃保存。			
工作液的配制：临用前将试剂一、试剂二、试剂三、试剂四、试剂五、试剂六和试剂七按 1:4:21:4:2:2:2 混合，用多少配多少；			

四、 操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，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 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零；
- 2、测定前将试剂恢复至常温；
- 3、操作表（在 UV 板中依次加入试剂）：

试剂名称	测定管	空白管
样品 (μL)	20	-
双蒸水 (μL)	-	30
工作液 (μL)	180	180
试剂八 (μL)	10	-

记录波长 340nm 处 20s 时吸光值 A₁ 和 5min20s 时的吸光值 A₂，计算 $\Delta A = A_{1\text{ 测定}} - A_{2\text{ 测定}}$ 。 $\Delta A_{\text{空白}} = A_{1\text{ 空白}} - A_{2\text{ 空白}}$ ；
 $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。（空白管只做 1-2 管）

五、1,5-二磷酸核酮糖羧化酶（Rubisco）活性计算：

1、按样本质量计算：

单位的定义：每克组织每分钟氧化 1nmol NADH 为一个酶活力单位。

$$\text{Rubisco (nmol/min/g)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 135.04 \times \Delta A \div W$$

2、按蛋白浓度计算：

单位的定义：每毫克蛋白每分钟氧化 1nmol NADH 为一个酶活力单位。

$$\text{Rubisco (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 135.04 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 2.1×10^{-4} L; ϵ : NADH 摩尔消光系数,
 6.22×10^3 L/mol/cm; d : 比色皿光径, 0.6cm; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积,
 0.05 mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; T : 反应时间, 5min; 10^9 :

单位换算系数, $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$; W : 样本质量, g;

六、注意事项：

1、样本测试前请选取 2 个预期差异最大的样本，做预实验，选择合适的样本检测浓度。

2、Rubisco 酶活性试剂种类相对较多，一定要注意每种试剂的使用，

【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