



细胞分裂素氧化酶 (CKO/CKK) 活性测定试剂盒

可见分光光度法

货号: R43841-48S

产品简介:

细胞分裂素氧化酶 (CKO/CKX, EC 1.5.99.12) 既能特异性催化细胞分裂素类异戊二烯侧链的不饱和键, 又能控制CK的合成与降解以稳定植物体内CK的含量, 是目前发现的唯一可促进内源CK降解的关键酶。

细胞分裂素氧化酶 (CKO/CKX) 催化底物进一步还原2,6-二氯酚靛酚 (DCPIP), 使该物质在600nm处的吸光值减小, 通过检测600nm处的下降速率进而得到CKO/CKX酶活性大小。

试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	粉体mg×1支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部, 再加1.1mL蒸馏水溶解, 并用蒸馏水稀释5倍待用。
试剂二	粉体mg×1支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部, 再加1.1mL无水乙醇溶解待用。
试剂三	液体28mL×1瓶	4℃保存	

所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿(光径1cm)、可调式移液器、低温离心机、研钵。

细胞分裂素氧化酶 (CKO/CKX) 活性测定:

建议正式实验前选取2个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:



取约0.2g 组织(水分充足的样本可取0.5g), 加入1mL 提取液, 进行冰浴匀浆, 4℃×12000rpm 离心15min, 取上清液待测。

【注】:若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为1:5~10的比例提取

2、上机检测:

①可见分光光度计预热30min以上, 调节波长至600nm, 蒸馏水调零, 所有试剂解冻至 室温(25℃)。

②在1mL玻璃比色皿(光径1cm)中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管
试剂一	20
试剂二	20
试剂三	560
样本	100
混匀, 室温(25℃)下, 10s时立即于600nm 处读取 A1,5min后读取A2,△A=A1-A2。	

【注】1.若A1值小于0.3,则可减少样本加样体积V1(如减至40μL,试剂三相应增加),则改变后的 V1 需代入计算公式重新计算。

2. 若△A 的值在零附近徘徊,可增加样本加样体积V1 (如增至200μL, 试剂三相应减少),或延长反应时间T(如由5min后读A2 延至10min),则改变后的V1 和T 需代入计算公式重新计算。

结果计算:

1、按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 每毫克组织蛋白每分钟还原1nmol 的2,6-二氯酚靛酚 (DCPIP)为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{CKO/CKX 活力}(\text{nmol/min/mg prot}) &= [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (V1 \times C_{pr}) \div T \\ &= 66.67 \times \Delta A \div C_{pr}\end{aligned}$$

2、按样本鲜重计算:



酶活定义: 每克组织每分钟还原1nmol 的2,6-二氯酚靛酚 (DCPIP) 定义为一个酶活力单位。

$$\text{CKO/CKX 活力}(\text{nmol/min/g 鲜重})=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (W \times V1 \div V) \div T$$
$$=66.67 \times \Delta A \div W$$

E---2,6- 二氯酚靛酚摩尔消光系数, $2.1 \times 10^4 \text{L/mol/cm}$;

d--- 光径, 1cm;

V----加入提取液体积, 1mL;

V1---加入样本体积, 0.1mL;

V2--- 反应体系总体积, $7 \times 10^{-4} \text{L}$;

T---反应时间, 5min;

W--- 样本质量, g;

X-500--细胞或细菌总数, 500万;

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL; 建议使用本公司的BCA 蛋白含量检测试剂盒。

源叶